(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202192789 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.05.20

(22) Дата подачи заявки
2020.04.07

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИФОЛАТНЫЙ РЕЦЕПТОР 1 ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

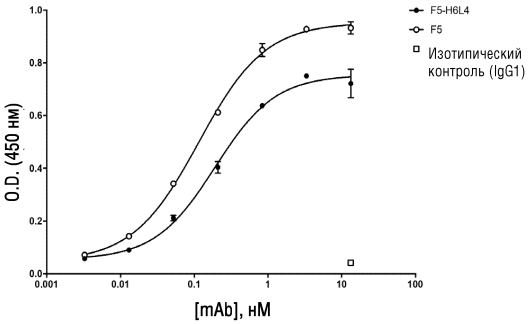
(31) **62/832,975; 62/863,330; 62/931,988**
(32) **2019.04.12; 2019.06.19; 2019.11.07**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/027092**
(87) **WO 2020/210247 2020.10.15**

(71) Заявитель:
ФЕЙНЗ ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ван Минхань, Цзоу Хой, Цзя Хайцюнь (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Описаны химерные антигенные рецепторы (CAR), специфичные к FOLR1, векторы, кодирующие FOLR1 CAR, рекомбинантные клетки-хозяева, содержащие FOLR1 CAR (CAR-T или CAR-NK) и способы применения CAR-T или CAR-NK для лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией FOLR1. Также описаны гуманизированные анти-FOLR1 моноклональные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты.



202192789 A1

202192789 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-570493EA/050

ГУМАНИЗИРОВАННЫЕ АНТИ-ФОЛАТНЫЙ РЕЦЕПТОР 1 ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

По этой заявке испрашивается приоритет временной заявки США № 62/832,975, поданной 12 апреля 2019 г.; временной заявки США № 62/863,330, поданной 19 июня 2019 г.; и временной заявки США 62/931,988, поданной 7 ноября 2019 года. Каждое описание полностью включено в настоящее описание путем ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к анти-фолатный рецептор 1 (FOLR1) химерным антигенным рецепторам (CAR), нуклеиновым кислотам и векторам экспрессии, кодирующим CAR, Т-клеткам, сконструированным для экспрессии CAR (CAR-T), и NK-клеткам, сконструированным для экспрессии CAR (CAR-NK). Изобретение также относится к способам получения CAR, способам получения CAR-T/CAR-NK и способам применения CAR-T/CAR-NK для лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией FOLR1, включая ракизобретение также относится кизобретение также относится к.

ССЫЛКА НА СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ ЭЛЕКТРОННЫМ ОБРАЗОМ

Эта заявка содержит список последовательностей, который предоставляется в электронном виде через EFS-Web в виде списка последовательностей в формате ASCII с именем файла «065799.21WO1 Sequence Listing» и датой создания 26 марта 2020 г. и размером 140 кб. Список последовательностей, представленный через EFS-Web, является частью спецификации и полностью включен в настоящее описание в качестве ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Стандартные противораковые лекарственные средства дают значительные преимущества. В последнее время наличие иммуно-онкологических лекарственных средств, таких как анти-PD-1 mAb, анти-PD-L1 mAb и анти-CD3 привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы продвинуло концепцию привлечения и активации иммунной системы пациента к борьбе с различными типами рака. Тем не менее, слабый ответ, недостаточная эффективность и/или вопросы безопасности все еще являются проблемами. Клеточная терапия CAR-T (химерным антигенным рецептором-Т) включает генетическое конструирование собственных иммунных клеток пациента, таких как Т-клетки, и перенаправление их на подходящий поверхностный антиген раковых клеток (Mayor et al., Immunotherapy 2016; 8: 491-494). Этот подход продемонстрировал успех у пациентов, страдающих хеморефрактерными В-клеточными злокачественными новообразованиями и другими видами рака (Pettitt et al., Mol Ther. 2018; 26:342-353). Т-клетки могут быть сконструированы так, чтобы обладать специфичностью к одной или нескольким мишеням/антигенам поверхности раковых клеток для распознавания и уничтожения раковых клеток. Процесс включает трансдукцию Т-клеток с ДНК или другим генетическим

материалом, кодирующим химерный антигенный рецептор (CAR), который включает внеклеточный антигенспецифический связывающий домен, такой как один или более одноцепочечных вариабельных фрагментов (ScFv) моноклонального антитела, шарнирная и трансмембранная область и внутриклеточный сигнальный домен (включая один или более костимулирующих доменов и один или более активирующих доменов) (Kochenderfer et al., Nat Rev Clin Oncol. 2013; 10: 267-276). CAR-экспрессирующие иммунные клетки, такие как Т-клетки и NK-клетки, могут применяться для лечения различных заболеваний, включая гемобластозы и солидные опухоли. Успешные CAR-Т-клеточные терапии могут специфически распознавать и разрушать клетки-мишени и сохранять способность выживать и пролиферировать с течением времени.

Фолатный рецептор 1 (FOLR1), также известный как фолатный рецептор α (FRα) или фолатный связывающий белок (FBP), является иммобилизованным на гликозилфосфатидилинозите (GPI) мембранным белком на клеточной поверхности, который имеет высокую аффинность для и транспортирует активную форму фолата, 5-метилтетрагидрофолата (5-MTF), и его производных в клетки (Salazar and Ratnam, Cancer Metastasis Rev 2007; 26:141-52). FOLR1 стал онкологической мишенью, потому что он сверхэкспрессируется в определенных солидных опухолях, таких как раки яичников, легких и груди (Toffoli et al., Int J Cancer 1997; 74:193-198 и Boogerd et al., Oncotarget 2016; 7:17442-17454), но его экспрессия находится на низких уровнях в ограниченных нормальных тканях человека (Weitman, et al., Cancer Res 1992; 52:3396-3401). Согласуясь с этим наблюдением, клинические испытания в фазе 1, проводимые до сих пор с FOLR1-таргетными малыми и большими молекулами, выявили хорошую переносимость лекарственного средства (Cheung et al., Oncotarget 2016; 7:52553-52574). Поэтому FOLR1 является идеальной мишенью для CAR-Т-клеточных терапий для лечения и излечения FOLR1-положительных раков.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ.

В одном общем аспекте изобретение относится к конструкции химерного антигенного рецептора (CAR), которая индуцирует опосредованное Т-клетками уничтожение рака, где конструкция CAR содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывает фолатный рецептор 1 (FOLR1) человека, шарнирную область, трансмембранную область, и внутриклеточной сигнальный домен.

Изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, содержащим последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR). CAR может содержать (a) внеклеточный домен, содержащий по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывает фолатный рецептор 1 (FOLR1) человека; (b) шарнирную область; (c) трансмембранную область; и (d) внутриклеточный сигнальный домен.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3,

определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 17, 18, 19, 41, 42 и 43, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 20, 21, 22, 44, 45 и 46, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 23, 24, 25, 47, 48 и 49, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 26, 27, 28, 50, 51 и 52, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 29, 30, 31, 53, 54 и 55, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 32, 33, 34, 56, 57 и 58, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 35, 36, 37, 59, 60 и 61, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 38, 39, 40, 62, 63 и 64, соответственно;

где антигенсвязывающий домен, специфически связывается с FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 65, 66, 67, 89, 90 и 91, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 68, 69, 70, 92, 93 и 94, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 71, 72, 73, 95, 96 и 97, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 74, 75, 76, 98, 99 и 100, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 77, 78, 79, 101, 102 и 103, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 104, 105 и 106, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 83, 84, 85, 107, 108 и 109, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 86, 87, 88, 110, 111 и 112, соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную SEQ ID. NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 или 15, или 23, или вариабельную область легкой цепи, имеющей полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичную последовательности SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 или 16.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 4;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 5, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 6;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 8;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 10;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 11, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 13, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 14; или

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NOs: SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающим доменом является одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающим доменом является гуманизированный одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека. В некоторых вариантах осуществления, одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) содержит полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 159-170.

В некоторых вариантах осуществления, химерный антигенный рецептор (CAR) содержит один или более антигенсвязывающих доменов.

В некоторых вариантах осуществления, внутриклеточный сигнальный домен содержит один или более костимулирующих доменов и один или более активирующих доменов.

Изобретение также относится к химерным антигенным рецепторам (CAR), кодируемым выделенными полинуклеотидами по изобретению.

Изобретение также относится к векторам, содержащим выделенные полинуклеотиды, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR по изобретению.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к клеткам-хозяевам, содержащим векторы по изобретению.

В некоторых вариантах осуществления, клеткой-хозяином является Т-клетка, предпочтительно, Т-клетка человека. В некоторых вариантах осуществления, клеткой-хозяином является NK-клетка, предпочтительно, NK-клетка человека. Например, Т-клетка или NK-клетка могут быть сконструированы для экспрессии CAR по изобретению для лечения таких заболеваний, как рак.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам получения клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR) по изобретению. Способы включают трансдукцию Т-клетки или NK-клетки вектором, содержащим выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR по изобретению.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам получения CAR-T клеток или CAR-NK клеток по изобретению. Способы включают культивирование Т-клеток или NK-клеток, содержащих выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по изобретению в условиях для получения CAR-T клетки или CAR-NK клетки, и выделение CAR-T клетки или CAR-NK клетки.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам создания популяции РНК-сконструированных клеток, содержащих химерный антигенный рецептор (CAR) по изобретению. Эти способы включают контакт клетки с выделенным полинуклеотидом, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по изобретению, где выделенный полинуклеотид in vitro транскрибируется РНК или синтетической РНК.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток по изобретению. Раком может быть любой гемобластоз или солидный рак, например, он может быть выбран из, но не ограничиваться ими, рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

В некоторых вариантах осуществления, способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, дополнительно включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который увеличивает эффективность клетки, экспрессирующей молекулу CAR.

В некоторых вариантах осуществления, способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, дополнительно включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который ослабляет один или более побочных эффектов, связанных с введением клетки, экспрессирующей молекулу CAR.

В некоторых вариантах осуществления, способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, дополнительно включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который лечит заболевание, связанное с FOLR1.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к гуманизированным моноклональным анти-FOLR1 антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, где антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

В некоторых вариантах осуществления, гуманизированные моноклональные анти-FOLR1 антитела или их антигенсвязывающие фрагменты содержат:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

В некоторых вариантах осуществления, гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способны связывать FOLR1, индуцируя эффектор-опосредованный лизис опухолевых клеток, опосредуя привлечение конъюгированных лекарственных средств, и/или образуя биспецифическое антитело с другим моноклональным антителом или антигенсвязывающим фрагментом, оказывая эффект, уничтожающий рак.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к выделенным нуклеиновым кислотам, кодирующим гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к векторам, содержащим выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

Изобретение также относится к клеткам-хозяевам, содержащим векторы, содержащие выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам таргетирования FOLR1 на поверхности раковой клетки у субъекта, нуждающегося в этом, включающим введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающим введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению. Раком может быть любой гемобластоз или солидный рак, например, он может быть выбран из, но не ограничиваясь этим, рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного

лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

Изобретение также относится кИзобретение также относится к способам получения гуманизированного моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по изобретению, включающим культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях для получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

Изобретение также относится к способу получения фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению, включающему объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем для получения фармацевтической композиции.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Приведенная выше сущность изобретения, а также следующее подробное описание предпочтительных вариантов осуществления настоящей заявки будет лучше понято при чтении вместе с прилагаемыми чертежами. Однако следует понимать, что заявка не ограничивается точными вариантами осуществления, показанными на чертежах.

На фиг. 1A-1L показано связывание гуманизированных mAb с иммобилизованным рекомбинантным FOLR1 белком человека по ELISA.

На фиг. 2A- 2E показано связывание гуманизированных mAb с SK-OV-3 клетками. Эксперимент проводят FACS анализом.

На фиг. 3A-3G показано связывание гуманизированных scFv с иммобилизованным рекомбинантным FOLR1 белком человека по ELISA.

На фиг. 4A-4G показано связывание гуманизированных scFv с SK-OV-3 клетками. Эксперимент проводят FACS анализом.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Различные публикации, статьи и патенты цитируются или описываются в разделе «Известный уровень техники» и по всему описанию; каждая из этих ссылок полностью включена в настоящее описание в качестве ссылки. Обсуждение документов, актов, материалов, устройств, статей и подобных, которые были включены в настоящее описание, имеет целью предоставить контекст для изобретения. Такое обсуждение не является признанием того, что некоторые или все эти вопросы составляют часть известного уровня техники в отношении любых описанных или заявленных изобретений.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые здесь, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой относится это изобретение. В противном случае некоторые используемые здесь термины имеют значения, указанные в описании.

Следует отметить, что используемые здесь и в прилагаемой формуле изобретения

формы единственного числа включают множественные ссылки, если контекст явно не диктует иное.

Если не указано иное, любые числовые значения, такие как концентрация или диапазон концентраций, описанные здесь, следует понимать как измененные во всех случаях термином «примерно». Таким образом, числовое значение обычно содержит ±10% от приведенного значения. Например, концентрация 1 мг/мл содержит от 0,9 до 1,1 мг/мл. Аналогично, диапазон концентраций от 1% до 10% (масс./об.) содержит от 0,9% (масс./об.) до 11% (масс./об.). В данном контексте использование числового диапазона явно включает в себя все возможные поддиапазоны, все отдельные числовые значения в этом диапазоне, включая целые числа в таких диапазонах и доли значений, если контекст явно не указывает иное.

Если не указано иное, термин «по меньшей мере», предшествующий ряду элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в ряду. Специалисты в данной области техники поймут или смогут установить, используя не более чем рутинное экспериментирование, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем изобретении. Предполагается, что такие эквиваленты входят в объем настоящего изобретения.

Используемые здесь термины «содержит», «содержащий», «включает», «включающий», «имеет», «имеющий», «содержит» или «содержащий» или любые другие их варианты будут поняты как включающие указанное целое число или группы целых чисел, но не исключающие любое другое целое число или группы целых чисел, и предназначены для того, чтобы быть неисключительными или открытыми. Например, композиция, смесь, процесс, способ, изделие или аппарат, который содержит список элементов, не обязательно ограничивается только этими элементами, но может включать другие элементы, не указанные в явном виде или присущие такой композиции, смеси, процессу, способу, изделию или аппарату. Кроме того, если прямо не указано иное, «или» относится к включающему или, а не к исключающему или. Например, условие А или В удовлетворяется одним из следующих условий: А истинно (или присутствует), а В ложно (или отсутствует), А ложно (или отсутствует) и В истинно (или присутствует), и оба А и В истинны (или присутствуют).

Используемый здесь термин «и/или» между множеством перечисленных элементов понимается как охватывающий как индивидуальные, так и комбинированные варианты. Например, если два элемента соединены «и/или», первый вариант относится к применимости первого элемента без второго. Второй вариант относится к применимости второго элемента без первого. Третий вариант относится к применимости первого и второго элементов вместе. Подразумевается, что любой из этих вариантов подпадают под значение и, следовательно, удовлетворяют требованию термина «и/или», как он используется в настоящем изобретении. Подразумевается, что одновременное применение более чем одного из вариантов подпадают под это значение и, следовательно, удовлетворяют требованию термина «и/или».

Используемый здесь термин «состоит из» или его варианты, такие как «состоит из» или «состоящий из», используемые в описании и формуле изобретения, указывают на включение любого перечисленного целого числа или группы целых чисел, но что никакое дополнительное целое число или группа целых чисел не может быть добавлено к указанному способу, структуре или композиции.

Используемый здесь термин «состоит по существу из» или варианты, такие как «состоит по существу из» или «состоящий по существу из», используемые в описании и формуле изобретения, указывают на включение любого перечисленного целого числа или группы целых чисел и необязательное включение любого перечисленного целого числа или группы целых чисел, которые по существу не изменяют основные или новые свойства указанного способа, структуры или композиции. См. M.P.E.P. § 2111.03.

Используемый здесь термин «субъект» означает любое животное, предпочтительно млекопитающее, наиболее предпочтительно, человека. Термин «млекопитающее», используемый здесь, охватывает любое млекопитающее. Примеры млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, коров, лошадей, овец, свиней, кошек, собак, мышей, крыс, кроликов, морских свинок, обезьян, людей и т.д., более предпочтительно, человека.

Слова «правый», «левый», «нижний» и «верхний» обозначают направления на чертежах, на которые делается ссылка.

Также следует понимать, что термины «примерно», «приблизительно», «в целом», «по существу» и подобные термины, используемые здесь при ссылке на размер или характеристику компонента предпочтительного изобретения, указывают на то, что описанный размер/характеристика не является строгой границей или параметром и не исключает незначительные отклонения от них, которые функционально являются одинаковыми или подобными, как было бы понятно специалисту в данной области техники. Как минимум, такие ссылки, которые включают числовой параметр, будут включать вариации, которые, используя математические и промышленные принципы, принятые в данной области техники (например, округление, измерение или другие систематические ошибки, производственные допуски и т. д.), не будут изменять наименее значащую цифру..

Термины «идентичный» или доля «идентичности» в контексте двух или несколько нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей (например, химерных антигенных рецепторов (CAR), содержащих антигенсвязывающие домены, специфичные для FOLR1, и полинуклеотидов, кодирующих их, полипептидов FOLR1 и полинуклеотидов FOLR1, кодирующих их), относятся к двум или нескольким последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют определенную долю одинаковых аминокислотных остатков или нуклеотидов при сравнении и выравнивании для максимального соответствия, как измерено с использованием одного из следующих алгоритмов сравнения последовательностей или путем визуального осмотра.

Для сравнения последовательностей обычно одна последовательность действует как эталонная последовательность, с которой сравниваются тестируемые последовательности. При использовании алгоритма сравнения последовательностей тестируемая и эталонная последовательности вводят в компьютер, при необходимости указывают координаты подпоследовательности и указывают параметры программы алгоритма последовательности. Затем алгоритм сравнения последовательностей вычисляет долю идентичности последовательностей для тестируемой последовательности(ей) относительно эталонной последовательности на основе указанных параметров программы.

Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения может быть проведено, например, с помощью алгоритма локальной гомологии Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 1981; 2:482, с помощью алгоритма выравнивания гомологии Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 1970; 48:443, поиском по способу сходства Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1988; 85:2444, с помощью компьютеризированных реализаций этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI) или путем визуального осмотра (см. о целом Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., 1995 Supplement (Ausubel)).

Примерами алгоритмов, которые подходят для определения доли идентичности последовательностей и сходства последовательностей, являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в Altschul et al., J. Mol. Biol. 1990; 215: 403-410 и Altschul et al., Nucleic Acids Res. 1997; 25: 3389-3402, соответственно. Программное обеспечение для проведения анализов BLAST публично доступно через National Center for Biotechnology Information. Этот алгоритм содержит в себя сначала идентификацию пар последовательностей с высоким показателем сходства (HSP) через идентификацию коротких слов длины W в последовательности запроса, которые либо совпадают, либо удовлетворяют некоторой положительной пороговой оценке T при выравнивании со словом такой же длины в последовательности базы данных. T называется порогом показателя сходства слов (Altschul et al, supra). Эти начальные совпадения соседних слов действуют как затравка для инициирования поиска, чтобы найти более длинные HSP, содержащие их. Затем совпадения слов расширяются в обоих направлениях вдоль каждой последовательности до тех пор, пока может быть увеличена совокупная оценка выравнивания.

Совокупные оценки вычисляют с использованием, для нуклеотидных последовательностей, параметров M (поощрительных баллов для пары совпадающих остатков; всегда >0) и N (штрафных баллов за несовпадающие остатки; всегда <0). Для аминокислотных последовательностей используют оценочную матрицу для вычисления совокупной оценки. Расширение совпадений слов в каждом направлении прекращается, когда: совокупная оценка выравнивания падает на величину X от ее максимального

достигнутого значения; совокупная оценка становится равной нулю или ниже из-за накопления одного или нескольких выравниваний остатков с отрицательной оценкой; либо достигнут конец любой последовательности. Параметры алгоритма BLAST, W, T и X определяют чувствительность и скорость выравнивания. Программа BLASTN (для нуклеотидных последовательностей) использует по умолчанию длину слова (W), равную 11, математическое ожидание (E), равное 10, M=5, N = -4, и сравнение обеих цепей. Для аминокислотных последовательностей программа BLASTP использует по умолчанию длину слова (W), равную 3, математическое ожидание (E), равное 10, и оценочную матрицу BLOSUM62 (см. Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989; 89:10915).

Помимо вычисления доли идентичности последовательностей, алгоритм BLAST также выполняет статистический анализ сходства между двумя последовательностями (см., например, Karlin & Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 1993; 90:5873-5787). Одной из мер сходства, обеспечиваемой алгоритмом BLAST, является наименьшая суммарная вероятность (P(N)), которая обеспечивает указание вероятности того, что совпадение между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями может произойти случайно. Например, нуклеиновая кислота считается подобной эталонной последовательности, если наименьшая суммарная вероятность при сравнении тестируемой нуклеиновой кислоты с эталонной нуклеиновой кислотой составляет менее примерно 0,1, более предпочтительно, менее примерно 0,01 и наиболее предпочтительно, менее примерно 0,001.

Еще одним признаком того, что две последовательности нуклеиновой кислоты или полипептиды, по существу, идентичны в том, что полипептид, кодируемый первой нуклеиновой кислотой, является иммунологически перекрестно реактивным с полипептидом, кодируемым второй нуклеиновой кислотой, как описано ниже. Таким образом, полипептид обычно по существу идентичен второму полипептиду, например, если два пептида отличаются только консервативными заменами. Другим признаком того, что две последовательности нуклеиновых кислот по существу идентичны, является то, что две молекулы гибридизируются друг с другом в строгих условиях.

Используемый здесь термин «выделенный» означает биологический компонент (такой как нуклеиновая кислота, пептид или белок), который был по существу отделен, продуцирован отдельно от или очищен от других биологических компонентов организма, в котором компонент встречается в природе, т.е. других хромосомных и внехромосомных ДНК и РНК, и белков. Таким образом, нуклеиновые кислоты, пептиды и белки, которые были «выделены», включают нуклеиновые кислоты и белки, очищенные стандартными способами очистки. «Выделенные» нуклеиновые кислоты, пептиды и белки могут быть частью композиции и при этом быть выделенными, если композиция не является частью нативной среды нуклеиновой кислоты, пептида или белка. Термин также охватывает нуклеиновые кислоты, пептиды и белки, полученные путем рекомбинантной экспрессии в клетке-хозяине, а также химически синтезированные нуклеиновые кислоты.

Используемый здесь термин «полинуклеотид», синонимично обозначаемый как

«молекула нуклеиновой кислоты», «нуклеотиды» или «нуклеиновые кислоты», относится к любому полирибонуклеотиду или полидезоксирибонуклеотиду, который может быть не модифицированной РНК или ДНК или модифицированной РНК или ДНК. «Полинуклеотиды» включают, без ограничения, одно- и двухцепочечную ДНК, ДНК, которая представляет собой смесь одно- и двухцепочечных областей, одно- и двухцепочечную РНК и РНК, которая представляет собой смесь одно- и двухцепочечных областей, гибридные молекулы, содержащие ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или, более типично, двухцепочечными, или смесью одноцепочечных и двухцепочечных областей. Кроме того, «полинуклеотид» относится к трехцепочечным областям, содержащим РНК или ДНК, или и РНК и ДНК. Термин полинуклеотид также включает ДНК или РНК, содержащие одно или несколько модифицированных оснований, и ДНК или РНК со скелетами, модифицированными для стабильности или по другим причинам. «Модифицированные» основания включают, например, тритилированные основания и необычные основания, такие как инозин. В ДНК и РНК можно вносить различные модификации; таким образом, «полинуклеотид» охватывает химически, ферментативно или метаболически модифицированные формы полинуклеотидов, которые обычно встречаются в природе, а также химические формы ДНК и РНК, характерные для вирусов и клеток. «Полинуклеотид» также охватывает относительно короткие цепи нуклеиновых кислот, часто называемые олигонуклеотидами.

Используемый здесь термин «вектор» означает репликон, в который может быть функционально вставлен другой сегмент нуклеиновой кислоты, чтобы вызвать репликацию или экспрессию сегмента.

Используемый здесь термин «клетка-хозяин» относится к клетке, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты по изобретению. «Клетка-хозяин» может быть клеткой любого типа, например, первичной клеткой, клеткой в культуре или клеткой из клеточной линии. В одном варианте осуществления, «клетка-хозяин» представляет собой клетку, трансфицированную или трансдуцированную молекулой нуклеиновой кислоты по изобретению. В другом варианте осуществления, «клетка-хозяин» представляет собой потомство или потенциальное потомство такой трансфицированной или трансдуцированной клетки. Потомство клетки может быть или не быть идентичным родительской клетке, например, из-за мутаций или влияний окружающей среды, которые могут происходить в последующих поколениях, или интеграции молекулы нуклеиновой кислоты в геном клетки-хозяина.

Термин «экспрессия», как используется здесь, относится к биосинтезу генного продукта. Термин охватывает транскрипцию гена в РНК. Термин также охватывает трансляцию РНК в один или более полипептидов и, кроме того, охватывает все существующие в природе посттранскрипционные и посттрансляционные модификации. Экспрессированный CAR может находиться в цитоплазме клетки-хозяина, во внеклеточной среде, такой как среда для роста клеточной культуры, или быть прикрепленным к клеточной мембране.

Как используется в настоящем описании, термин «иммунная клетка» или «иммунные эффекторные клетки» относится к клетке, которая вовлечен в иммунный ответ, например, в способствование ответу иммунного эффектора. Примеры иммунных клеток включают Т-клетки, В-клетки, естественные киллеры (NK), тучные клетки и фагоциты миелоидного происхождения. Согласно конкретным вариантам осуществления, сконструированные иммунные клетки представляют собой Т-клетки и называются CAR-Т-клетками, поскольку они сконструированы для экспрессии CAR по изобретению.

Используемый здесь термин «сконструированная иммунная клетка» относится к иммунной клетке, также называемой иммунной эффекторной клеткой, которая была генетически модифицирована путем добавления дополнительного генетического материала в форме ДНК или РНК к общему генетическому материалу клетки. Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, сконструированные иммунные клетки были генетически модифицированы для экспрессии конструкции CAR согласно изобретению.

Химерный антигенный рецептор (CAR)

Используемый здесь термин «химерный антигенный рецептор» (CAR) относится к рекомбинантному полипептиду, содержащему, по меньшей мере, внеклеточный домен, который специфически связывается с антигеном или мишенью, трансмембранный домен и внутриклеточный Т-клеточный рецептор-активирующий сигнальный домен. Взаимодействие внеклеточного домена CAR с антигеном-мишенью на поверхности клетки-мишени приводит к кластеризации CAR и доставляет стимул активации в CAR-содержащую клетку. CAR перенаправляют специфичность иммунных эффекторных клеток и запускают пролиферацию, продуцирование цитокинов, фагоцитоз и/или продуцирование молекул, которые могут опосредовать гибель антигенэкспрессирующих клеток-мишеней независимым от основного комплекса гистосовместимости (MHC) образом.

В одном из аспектов, CAR содержит антигенсвязывающий домен, шарнирную область, костимулирующий домен, активирующий домен и трансмембранную область. В одном аспекте, CAR содержит антигенсвязывающий домен, шарнирную область, два костимулирующих домена, активирующий домен и трансмембранную область. В одном аспекте, CAR содержит два антигенсвязывающих домена, шарнирную область, костимулирующий домен, активирующий домен и трансмембранную область. В одном аспекте, CAR содержит два антигенсвязывающих домена, шарнирную область, два костимулирующих домена, активирующий домен и трансмембранную область.

Используемый здесь термин «сигнальный пептид» относится к лидерной последовательности на амино-конце (N-конце) растущего белка CAR, который ко-трансляционно или пост-трансляционно направляет растущий белок в эндоплазматический ретикулум и последующую поверхностную экспрессию.

Используемый здесь термин «внеклеточный антигенсвязывающий домен», «внеклеточный домен» или «внеклеточный лигандсвязывающий домен» относится к части

CAR, которая расположена вне клеточной мембраны и способна связываться с антигеном, мишенью или лигандом.

Используемый здесь термин «шарнирная область» относится к части CAR, которая соединяет два соседних домена белка CAR, например внеклеточный домен и трансмембранный домен.

Используемый здесь термин «трансмембранный домен» относится к части CAR, которая проходит через клеточную мембрану и прикрепляет CAR к клеточной мембране. Иногда он обозначен как «трансмембранная область».

Костимулирующие домены

В контексте настоящего описания химерные антигенные рецепторы могут включать костимулирующие (сигнальные) домены для повышения их эффективности. Костимулирующий (сигнальный) домен может быть получен из костимулирующей молекулы. Костимулирующими молекулами являются молекулы клеточной поверхности, отличные от антигенных рецепторов или их лигандов, которые необходимы для эффективного иммунного ответа. Костимулирующие домены могут быть получены из костимулирующих молекул, которые могут включать, но не ограничиваются ими, CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (альфа, бета, дельта, эпсилон, гамма, дзета), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD33, CD37, CD40, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, запрограммированную смерть-1 (PD-1), индуцируемый костимулятор Т-клетки (ICOS), антиген-1, связанный с функцией лимфоцитов (LFA-1; CD11a и CD18), C D247, CD276 (B7-H3), LIGHT (член суперсемейства фактора некроза опухоли 14; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP10, Fc гамма рецептор, молекулу MHC класса I, TNFR, интегрин, молекулу сигнальной активации лимфоцитов, BTLA, лиганда Toll-рецептора, ICAM-1, CDS, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, CD 1 a, CD1b, CD1c, CD1d, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2 (CD18), IT GB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Тактиль), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD 160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD83 лиганд, рецептор цитокина, активирующие рецепторы NK-клеток, или их фрагменты или любые их комбинации.

Активирующие домены

В настоящем описании химерные антигенные рецепторы могут содержать активирующие домены. Активирующие домены могут включать, но не ограничиваются ими, CD3. CD3 является элементом Т-клеточного рецептора на нативных Т-клетках и, как было показано, является важным внутриклеточным активирующим элементом в CAR. В предпочтительном варианте осуществления, CD3 является CD3 дзета.

Шарнирная область

Как описано в настоящем документе, химерный антигенный рецептор может содержать шарнирную область. Это часть внеклеточного домена, который иногда называют как «спейсерной» областью. Множество шарниров может быть использовано в соответствии с изобретением, включая костимулирующие молекулы, как обсуждалось выше, иммуноглобулиновые (Ig) последовательности или другие подходящие молекулы для получения желаемого специального расстояния от клетки-мишени. В некоторых вариантах осуществления, вся внеклеточная область содержит шарнирную область.

Трансмембранная область

В настоящем описании химерные антигенные рецепторы (CAR) могут включать трансмембранную область/домен. CAR может быть сконструирован так, чтобы содержать трансмембранный домен, который слит с внеклеточным доменом CAR. Аналогичным образом он может быть слит с внутриклеточным доменом CAR. В одном варианте используется трансмембранный домен, который естественным образом связан с одним из доменов в CAR. В некоторых случаях, трансмембранный домен может быть выбран или модифицирован путем аминокислотной замены, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами тех же или других поверхностных мембранных белков, чтобы минимизировать взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса. Трансмембранный домен может быть получен из природного или синтетического источника. Если источник является природным, домен может быть получен из любого мембраносвязанного или трансмембранного белка. Трансмембранные области, которые можно использовать в настоящем изобретении, могут быть получены из (т.е. содержат или сконструированы из), но не ограничиваются ими, CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (альфа, бета, дельта, эпсилон, гамма, дзета), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD33, CD37, CD40, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, запрограммированную смерть-1 (PD-1), индуцируемый костимулятор Т-клеток (ICOS), антиген-1, связанный с функцией лимфоцитов (LFA-1; CD11a и CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (член суперсемейства фактора некроза опухоли 14; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP10, рецептор Fc гамма, молекулу MHC класса I, TNFR, интегрин, сигнальную молекулу активации лимфоцитов, BTLA, лиганд Toll-рецептора, ICAM-1, CDS, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, IA4, CD49D, ITGA6, VLA -6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2 (CD18), ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Тактиль), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD 160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганд CD83, рецептор цитокина, активирующие рецепторы NK-клеток, белок иммуноглобулина или их фрагменты или любую их комбинацию.

Иммунные клетки

Согласно конкретным аспектам, изобретение относится к клеткам, которые являются иммунными клетками, которые содержат выделенные полинуклеотиды, или векторы, содержащие выделенные полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую CAR. Иммунные клетки, содержащие выделенные полинуклеотиды и/или векторы по изобретению, можно назвать «сконструированными иммунными клетками». Предпочтительно, сконструированные иммунные клетки получают от человека (имеют человеческое происхождение до того, как будут сделаны рекомбинантными).

Сконструированные иммунные клетки могут быть, например, клетками лимфоидной линии. Неограничивающие примеры клеток лимфоидной линии могут включать Т-клетки и естественные киллеры (NK). Т-клетки экспрессируют Т-клеточный рецептор (TCR), при этом большинство клеток экспрессирует α и β цепи и меньшая популяция экспрессирует γ и δ цепи. Т-клетки, используемые в качестве сконструированных иммунных клеток по изобретению, могут быть $CD4^+$ или $CD8^+$ и могут включать, но не ограничиваться ими, Т-хелперные клетки ($CD4^+$), цитотоксические Т-клетки (также называемые цитотоксическими Т-лимфоцитами, CTL; $CD8^+$ клетки) и Т-клетки памяти, включая центральные Т-клетки памяти, подобные стволовым Т-клетки памяти и эффекторные Т-клетки памяти, естественные киллеры Т-клетки, ассоциированные со слизистой инвариантные Т-клетки, и γδ Т-клетки. Другие типовые иммунные клетки включают, но не ограничиваются ими, макрофаги, антигенпрезентирующие клетки (APC) или любую иммунную клетку, которая экспрессирует ингибитор клеточно-опосредованного иммунного ответа, например рецептор пути ингибитора иммунной контрольной точки (например, PD-1). Клетки-предшественники иммунных клеток, которые можно использовать по изобретению, включают гемопоэтические стволовые клетки и/или клетки-предшественники. Гемопоэтические стволовые клетки и/или клетки-предшественники могут быть получены из костного мозга, пуповинной крови, периферической крови взрослых после мобилизации цитокинов и подобных, способами, известными в данной области техники. Иммунные клетки сконструированы для рекомбинантной экспрессии CAR по изобретению.

Иммунные клетки и их клетки-предшественники могут быть выделены способами, известными в данной области техники, включая коммерчески доступные способы (см., например, Rowland Jones et al., Lymphocytes: A Practical Approach, Oxford University Press, NY 1999). Источники иммунных клеток или их предшественников включают, но не ограничиваются ими, периферическую кровь, пуповинную кровь, костный мозг или другие источники гемопоэтических клеток. Для разделения клеток с целью выделения или обогащения желаемых иммунных клеток можно использовать различные способы. Например, способы отрицательного селектирования могут использоваться для удаления клеток, которые не являются желаемыми иммунными клетками. Кроме того, для выделения или обогащения желаемых иммунных клеток или их предшественников можно

использовать способы положительного селектирования, или можно использовать комбинацию способов положительного и отрицательного селектирования. Если необходимо выделить конкретный тип клеток, например конкретную Т-клетку, для разделения клеток можно использовать различные маркеры клеточной поверхности или комбинации маркеров (например, CD3, CD4, CD8, CD34).

Иммунные клетки или их клетки-предшественники могут быть аутологичными или не аутологичными по отношению к субъекту, которому они вводятся в способах лечения по изобретению. Аутологичные клетки выделяют у субъекта, которому должны быть введены сконструированные иммунные клетки, рекомбинантно экспрессирующие CAR. Необязательно, клетки можно получить с помощью лейкафереза, при котором лейкоциты выборочно удаляются из взятой крови, делаются рекомбинантными, а затем повторно трансфицируются донору. Альтернативно, можно использовать аллогенные клетки от не аутологичного донора, который не является субъектом. В случае не аутологичного донора, клетки типируют и сравнивают с человеческим лейкоцитарным антигеном (HLA), для определения соответствующего уровня совместимости. Как для аутологичных, так и для не аутологичных клеток, клетки необязательно могут быть криоконсервированы до готовности к использованию.

Различные способы выделения иммунных клеток, которые можно использовать для рекомбинантной экспрессии CAR по изобретению, были описаны ранее и могут быть использованы, включая, но не ограничиваясь ими, использование периферических донорных лимфоцитов (Sadelain et al., Nat. Rev. Cancer 2003; 3:35-45; Morgan et al., Science 2006; 314:126-9), использование культур лимфоцитов, полученных из лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL) в биопсиях опухоли (Panelli et al., J. Immunol. 2000; 164:495-504; Panelli et al., J. Immunol. 2000; 164:4382-92) и использование селективно in vitro размноженных антигенспецифических лейкоцитов периферической крови, использование искусственных антигенпрезентирующих клеток (AAPC) или дендритных клеток (Dupont et al., Cancer Res. 2005; 65:5417-427; Papanicolaou et al., Blood 2003; 102:2498-505). В случае использования стволовых клеток, клетки можно выделить способами, хорошо известными в данной области (см., например, Klug et al., Hematopoietic Stem Cell Protocols, Humana Press, NJ 2002; Freshney et al., Culture of Human Stem Cells, John Wiley & Sons 2007).

Согласно конкретным вариантам осуществления, способ создания сконструированных иммунных клеток включает трансфекцию или трансдукцию иммунных эффекторных клеток, выделенных от индивидуума, так, чтобы иммунные эффекторные клетки экспрессировали один или более CAR согласно вариантам осуществления изобретения. Способы получения иммунных клеток для иммунотерапии описаны, например, в WO2014/130635, WO2013/176916 и WO2013/176915, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки. Отдельные стадии, которые можно использовать для получения сконструированных иммунных клеток, описаны, например, в WO2014/039523, WO2014/184741, WO2014/191128, WO2014/184744 и WO2014/184143,

которые включены в настоящее описание в качестве ссылки.

В конкретном варианте осуществления, иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, генетически модифицированы CAR по изобретению (например, трансдуцированы вирусным вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR), а затем активируются и размножаются in vitro. В различных вариантах осуществления, Т-клетки могут быть активированы и размножены до или после генетической модификации для экспрессии CAR с использованием способов, описанных, например, в US6352694, US6534055, US6905680, US6692964, US5858358, US6887466, US6905681, US7144575, US7067318, US7172869, US7232566, US7175843, US5883223, US6905874, US6797514, US6867041, US2006/121005, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки. Т-клетки можно размножать in vitro или in vivo. Как правило, Т-клетки по изобретению можно размножать через контакт с поверхностью, к которой прикреплен агент, который стимулирует сигнал, ассоциированный с комплексом CD3/TCR, и лиганд, который стимулирует костимулирующую молекулу на поверхности Т-клеток. В качестве неограничивающих примеров, популяции Т-клеток могут быть стимулированы, как описано здесь, например, через контакт с анти-CD3 антителом, или его антигенсвязывающим фрагментом, или анти-CD-3 антителом, иммобилизованным на поверхности, или через контакт с активатором протеинкиназы С (например, бриостатином) в сочетании с ионофором кальция или через активацию самого CAR. Для костимуляции вспомогательной молекулы на поверхности Т-клеток используют лиганд, который связывает вспомогательную молекулу. Например, популяция Т-клеток может контактировать с анти-CD3 антителом и анти-CD28 антителом в условиях, подходящих для стимулирования пролиферации Т-клеток. Условия, подходящие для культивирования Т-клеток, включают, например, подходящую среду (например, Minimal Essential Media или RPMI Media 1640 или X-vivo 5 (Lonza)), которая может содержать факторы, необходимые для пролиферации и жизнеспособности, включая сыворотку (например, фетальную бычью или человеческую сыворотку), цитокины, такие как IL-2, IL-7, IL-15 и/или IL-21, инсулин, IFN-g, GM-CSF, TGFβ и/или какие-либо другие добавки для роста клетки, известные специалисту в данной области техники. В других вариантах осуществления, Т-клетки могут быть активированы и стимулированы для пролиферации питающими клетками и подходящими антителами и цитокинами с использованием способов, таких как описаны в US6040177, US5827642 и WO2012129514, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки.

Антитела и антигенсвязывающие домены

Используемый здесь термин «антитело» используется в широком смысле и включает молекулы иммуноглобулина или антитела, включая человеческие, гуманизированные, композитные и химерные антитела и фрагменты антител, которые являются моноклональными или поликлональными. Как правило, антитела представляют собой белки или пептидные цепи, которые проявляют специфичность связывания с конкретным антигеном. Структуры антител хорошо известны. Иммуноглобулины можно

отнести к пяти основным классам (т.е. IgA, IgD, IgE, IgG и IgM) в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG далее подразделяются на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Соответственно, антитела по изобретению могут относиться к любому из пяти основных классов или соответствующих подклассов. Предпочтительно, антитела по изобретению представляют собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Легкие цепи антител позвоночных можно отнести к одному из двух четко различающихся типов, а именно к каппа и лямбда, на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. Соответственно, антитела по изобретению могут содержать константный домен легкой цепи каппа или лямбда. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, антитела по изобретению включают константные области тяжелой и/или легкой цепи из антител крысы или человека. В дополнение к константным доменам тяжелой и легкой цепи, антитела содержат антигенсвязывающую область, которая состоит из вариабельной области легкой цепи и вариабельной области тяжелой цепи, каждая из которых содержит три домена (т.е. определяющие комплементарность области 1-3; CDR1, CDR2 и CDR3). Домены вариабельной области легкой цепи альтернативно называют LCDR1, LCDR2, и LCDR3, и домены вариабельной области тяжелой цепи альтернативно называют HCDR1, HCDR2, и HCDR3.

Используемый здесь термин «выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит других антител, обладающих другой антигенной специфичностью (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с FOLR1, по существу не содержит антител, которые не связываются с FOLR1). Кроме того, выделенное антитело практически не содержит другой клеточный материал и/или химические вещества.

Используемый здесь термин «моноклональное антитело» или «mAb» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела по изобретению могут быть получены способом гибридомы, технологией фагового дисплея, технологией клонирования гена единичных лимфоцитов или способами рекомбинантной ДНК. Например, моноклональные антитела могут быть продуцированы гибридомой, которая содержит В-клетку, полученную от трансгенного животного, отличного от человека, такого как трансгенная мышь или крыса, имеющего геном, содержащий трансген тяжелой цепи и трансген легкой цепи человека.

Используемый здесь термин «антигенсвязывающий фрагмент» и/или «антигенсвязывающий домен» относится к фрагменту антитела, такому как, например, диатело, Fab, Fab ', F(ab')2, фрагмент Fv, стабилизированный дисульфидом фрагмент Fv (dsFv), а (dsFv)2, биспецифический dsFv (dsFv-dsFv'), диатело, стабилизированное дисульфидом (ds диатело), молекула одноцепочечного антитела (scFv), однодоменное антитело (sdab), димер scFv (двухвалентное диатело), мультиспецифическое антитело,

образованное из части антитела, содержащей одну или несколько CDR, камелизированное однодоменное антитело, нанотело, доменное антитело, двухвалентное доменное антитело или любой другой фрагмент антитела, который связывается с антигеном, но не содержит полную структуру антитела. Антигенсвязывающий домен способен связываться с тем же антигеном, с которым связывается исходное антитело. Согласно конкретным вариантам осуществления, антигенсвязывающий домен содержит одноцепочечную молекулу антитела (scFv).

Используемый здесь термин «одноцепочечное антитело» относится к обычному одноцепочечному антителу в данной области, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, соединенные коротким пептидом от примерно 5 до примерно 20 аминокислот. Используемый здесь термин «однодоменное антитело» относится к обычному однодоменному антителу в данной области, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи или которое содержит только вариабельную область тяжелой цепи.

Используемый здесь термин «антитело человека» относится к антителу, продуцируемому человеком, или антителу, имеющему аминокислотную последовательность, соответствующую антителу, продуцируемому человеком, полученному с использованием любого способа, известного в данной области. Это определение антитела человека содержит интактные или полноразмерные антитела, их фрагменты и/или антитела, содержащие по меньшей мере один полипептид тяжелой и/или легкой цепи человека.

Используемый здесь термин «гуманизированное антитело» и/или «гуманизированный антигенсвязывающий домен » относится к не человеческому антителу и/или не человеческому антигенсвязывающему домену, который модифицирован для увеличения гомологии последовательности последовательностью антитела человека и/или антигенсвязывающего домена человека, так что антигенсвязывающие свойства антигенсвязывающего домена сохраняются, но его антигенность в организме человека снижается.

В настоящем описании, термин «химерное антитело» и/или «химерный антигенсвязывающий домен» относится к антителу и/или антигенсвязывающему домену, где последовательность аминокислот молекулы иммуноглобулина получают из двух или несколько видов. Вариабельная область как легкой, так и тяжелой цепей часто соответствует вариабельной области антитела и/или антигенсвязывающего домена, происходящего от одного вида млекопитающего (например, мыши, крысы, кролика и т. д.), имеющего желаемую специфичность, сродство, и способность, в то время как константные области соответствуют последовательностям антитела и/или антигенсвязывающего домена, происходящего от другого вида млекопитающего (например, человека), чтобы избежать возникновения иммунного ответа у этого вида.

Используемый здесь термин «мультиспецифическое антитело» относится к антителу, которое содержит множество последовательностей вариабельного домена

иммуноглобулина, причем первая последовательность вариабельного домена иммуноглобулина из множества имеет специфичность связывания для первого эпитопа, и вторая последовательность вариабельного домена иммуноглобулина из множества имеет специфичность связывания для второго эпитопа. В варианте осуществления, первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, *например,* на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В варианте осуществления, первый и второй эпитопы перекрываются или по существу перекрываются. В варианте осуществления, первый и второй эпитопы не перекрываются или по существу не перекрываются. В варианте осуществления, первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, *например,* на разных белках (или разных субъединицах мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления, мультиспецифическое антитело содержит третий, четвертый или пятый вариабельный домен иммуноглобулина. В одном из вариантов осуществления, мультиспецифическое антитело представляет собой молекулу биспецифического антитела, молекулу триспецифического антитела или молекулу тетраспецифического антитела.

Используемый здесь термин «биспецифическое антитело» относится к мультиспецифическому антителу, которое связывает не более двух эпитопов или двух антигенов. Биспецифическое антитело характеризуется первой последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая имеет специфичность связывания для первого эпитопа, и второй последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая имеет специфичность связывания для второго эпитопа. В варианте осуществления, первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, *например,* на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В варианте осуществления, первый и второй эпитопы перекрываются или по существу перекрываются. В варианте осуществления, первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, *например,* на разных белках (или разных субъединицах мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления, биспецифическое антитело содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи и последовательность вариабельного домена легкой цепи, которые обладают специфичностью связывания для первого эпитопа, и последовательность вариабельного домена тяжелой цепи и последовательность вариабельного домена легкой цепи, которые обладают специфичностью связывания для второго эпитопа. В одном из вариантов осуществления, биспецифическое антитело содержит полуантитело или его фрагмент, обладающее специфичностью связывания для первого эпитопа, и половину антитела или его фрагмент, имеющую специфичность связывания для второго эпитопа. В одном из вариантов осуществления, биспецифическое антитело содержит scFv или его фрагмент, обладающий специфичностью связывания для первого эпитопа, и scFv или его фрагмент, обладающий специфичностью связывания для второго эпитопа. В одном из вариантов осуществления, первый эпитоп расположен на FOLR1, а второй эпитоп расположен на PD-1, PD-L1, TIM-3, LAG-3, CD73, апелине, CTLA-4, EGFR, HER-2, CD3, CD19, CD20, CD33, CD47, TIP-1,

CLDN18.2, FOLR1 и/или других опухолеассоциированных иммунодепрессантах или поверхностных антигенах.

Фолатный рецептор 1 (FOLR1), также известный как фолатный рецептор α (FRα) или фолатный связывающий белок (FBP), является иммобилизованным на гликозилфосфатидилинозите (GPI) мембранным белком на клеточной поверхности, который имеет высокую аффинность для и транспортирует активную форму фолата, 5-метилтетрагидрофолата (5-MTF), и его производных в клетки (Salazar and Ratnam, Cancer Metastasis Rev 2007; 26:141-52). FOLR1 стал онкологической мишенью, потому что он сверхэкспрессируется в определенных солидных опухолях, таких как раки яичников, легких и груди (Toffoli et al., Int J Cancer 1997; 74:193-198 и Boogerd et al., Oncotarget 2016; 7:17442-17454), но его экспрессия находится на низких уровнях в ограниченных нормальных тканях человека (Weitman, et al., Cancer Res 1992; 52:3396-3401). Согласуясь с этим наблюдением, клинические испытания в фазе 1, проводимые до сих пор с FOLR1-таргетными малыми и большими молекулами, выявили хорошую переносимость лекарственного средства (Cheung et al., Oncotarget 2016; 7:52553-52574). Поэтому FOLR1 является идеальной мишенью для CAR-T-клеточных терапий для лечения и излечения FOLR1-положительных раков. Типовая аминокислотная последовательность FOLR1 человека представлена в GenBank под номером доступа NP_057937 (SEQ ID NO:135).

В настоящем описании антитело и/или антигенсвязывающий домен, который «специфически связывается с FOLR1», относится к антителу и/или антигенсвязывающему домену, который связывается с FOLR1, предпочтительно с FOLR1 человека, с KD 1×10^{-7} M или менее, предпочтительно, 1×10^{-8} M или менее, более предпочтительно, 5×10^{-9} M или менее, 1×10^{-9} M или менее, 5×10^{-10} M или менее, или 1×10^{-10} M или менее. Термин «KD» относится к константе диссоциации, которая получается из отношения Kd к Ka (т.е. Kd/Ka) и выражается в виде молярной концентрации (M). Значения KD для антигенсвязывающего домена можно определить с использованием способов, известных в данной области техники, с учетом настоящего описания. Например, KD антитела и/или антигенсвязывающего домена можно определить с помощью поверхностного плазмонного резонанса, например, с применением биосенсорной системы, например, системы Biacore®, или с применением технологии биослойной интерферометрии, такой как система Octet RED96.

Чем меньше значение KD антитела и/или антигенсвязывающего домена, тем выше аффинность, с которой антитело и/или антигенсвязывающий домен связываются с антигеном-мишенью.

В соответствии с конкретным аспектом, настоящее изобретение относится к химерным антигенным рецепторам (CAR), включающим антигенсвязывающий домен, где антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1, (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 17, 18, 19, 41, 42 и 43, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 20, 21, 22, 44, 45 и 46, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 23, 24, 25, 47, 48 и 49, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 26, 27, 28, 50, 51 и 52, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 29, 30, 31, 53, 54 и 55, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 32, 33, 34, 56, 57 и 58, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 35, 36, 37, 59, 60 и 61, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 38, 39, 40, 62, 63 и 64, соответственно;

где антигенсвязывающий домен, специфически связывается с FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 65, 66, 67, 89, 90 и 91, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 68, 69, 70, 92, 93 и 94, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 71, 72, 73, 95, 96 и 97, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 74, 75, 76, 98, 99 и 100, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 77, 78, 79, 101, 102 и 103, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 104, 105 и 106, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 83, 84, 85, 107, 108 и 109, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 86, 87, 88, 110, 111 и 112, соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную SEQ ID. NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 или 15, или 23, или вариабельную область легкой цепи, имеющей полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%,или по меньшей мере 99% идентичную последовательности SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 или 16.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 4;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 5, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 6;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 8;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 10;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 11, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 13, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 14; или

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NOs: SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

Согласно другому конкретному аспекту, антигенсвязывающим доменом является одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

В некоторых вариантах осуществления, кодированным антигенсвязывающим доменом является гуманизированный одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека. В некоторых вариантах осуществления, антигенсвязывающим доменом является гуманизированный одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека. В некоторых вариантах осуществления, гуманизированный одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) содержит полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, идентичную любой из SEQ ID NOs: 159-170. В некоторых вариантах осуществления, гуманизированный одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) содержит полипептидную последовательность, имеющую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NOs: 159-170.

В соответствии с другим конкретным аспектом, химерный антигенный рецептор содержит один или более антигенсвязывающих доменов.

Согласно другому конкретному аспекту, внутриклеточный сигнальный домен содержит один или более костимулирующих доменов и один или более активирующих доменов.

В другом общем аспекте, изобретение относится к выделенному полинуклеотиду, содержащему нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор

(CAR), где CAR содержит его антигенсвязывающий домен по изобретению. Специалистам в данной области техники будет понятно, что кодирующая последовательность белка может быть изменена (например, подвергнута замене, делеции, вставке и т.д.) без изменения аминокислотной последовательности белка. Соответственно, специалистам в данной области будет понятно, что последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие их антигенсвязывающие домены по изобретению, могут быть изменены без изменения аминокислотных последовательностей белков.

В другом общем аспекте, изобретение относится к вектору, содержащему выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, где CAR содержит его антигенсвязывающий домен, по изобретению. Может быть использован любой вектор, известный специалистам в данной области техники, с учетом настоящего раскрытия, такой как плазмида, космида, фаговый вектор или вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой рекомбинантный вектор экспрессии, такой как плазмида. Вектор может включать в себя любой элемент для установления обычной функции вектора экспрессии, например промотор, элемент связывания рибосомы, терминатор, энхансер, маркер селектирования и точку начала репликации. Промотор может быть конститутивным, индуцируемым или репрессируемым промотором. Множество векторов экспрессии, способных доставлять нуклеиновые кислоты в клетку, известно в данной области техники и может быть использовано здесь для продуцирования их антигенсвязывающего домена в клетке. Обычные методы клонирования или синтез искусственного гена могут быть использованы для создания рекомбинантного вектора экспрессии согласно вариантам осуществления изобретения.

В другом общем аспекте, изобретение относится к клетке, трансдуцированной вектором, содержащим выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR по изобретению. Термин «трансдуцированный» или «трансдукция» относится к процессу, в котором экзогенная нуклеиновая кислота переносится или вводится в клетку-хозяин. «Трансдуцированной» клеткой является такая, которая была трансдуцирована экзогенной нуклеиновой кислотой. Клетка содержит первичную клетку субъекта и ее потомство. В некоторых вариантах осуществления, клетка представляет собой CAR-T-клетку, предпочтительно, CAR-T-клетку человека, где T-клетка сконструирована, чтобы экспрессировать CAR по изобретению для лечения заболеваний, таких как рак. В некоторых вариантах осуществления, клетка представляет собой CAR-NK-клетку, предпочтительно, CAR-NK-клетку человека, где NK-клетка, сконструированная для экспрессии CAR по изобретению, используется для лечения таких заболеваний, как рак.

В другом общем аспекте, изобретение относится к способу создания CAR-T-клетки через трансдукцию T-клетки вектором, содержащим выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR по изобретению.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к способу получения CAR-T-клетки по изобретению, включающему культивирование T-клеток, содержащих

нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по изобретению в условиях получения CAR-T-клетки и восстановления CAR-T- клетки.

В другом общем аспекте, изобретение относится к способу получения CAR-NK-клетки трансдукцией NK-клетки вектором, содержащим выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR по изобретению.

В другом общем аспекте изобретение относится к способу получения CAR-NK-клетки по изобретению, включающему культивирование NK-клеток, содержащих нуклеиновые кислоты, кодирующие химерный антигенный рецептор (CAR), в условиях получения CAR-NK-клетки и восстановления CAR-NK-клетки.

В другом общем аспекте, изобретение относится к способу создания популяции РНК-сконструированных клеток, содержащих химерный антигенный рецептор (CAR) по изобретению. Способы включают контакт популяции клеток с выделенными полинуклеотидами, содержащими нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR по изобретению, где выделенные полинуклеотиды представляют собой in vitro транскрибированную РНК или синтетическую РНК.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к гуманизированному моноклональному анти-FOLR1 антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

В соответствии с другим конкретным аспектом, гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

В соответствии с другим конкретным аспектом, гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способно связывать FOLR1, индуцируя эффектор-опосредованный лизис опухолевых клеток, опосредующий привлечение конъюгированных лекарственных средств, и/или образуя биспецифическое антитело с другим моноклональным антителом или антигенсвязывающим фрагментом, оказывая эффект, уничтожающий рак.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

В другом общем аспекте изобретение относится к вектору, содержащему выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

В другом общем аспекте, изобретение относится к клетке-хозяину, содержащей вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

В другом общем аспекте изобретение относится к способу получения гуманизированного моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по изобретению, включающему культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент в условиях для получения моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

Фармацевтические композиции

В другом общем аспекте, изобретение относится к фармацевтической композиции,

содержащей выделенный полинуклеотид по изобретению, выделенный полипептид по изобретению, клетку-хозяин по изобретению и/или сконструированную иммунную клетку по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Термин «фармацевтическая композиция», используемый здесь, означает продукт, содержащий выделенный полинуклеотид по изобретению, выделенный полипептид по изобретению, клетку-хозяин по изобретению, сконструированную иммунную клетку по изобретению и/или гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Полинуклеотиды, полипептиды, клетки-хозяева, сконструированные иммунные клетки по изобретению и/или гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению и композиции, содержащие их, также могут быть использованы в производстве лекарственного средства для терапевтического применения, упомянутого в настоящем документе.

Используемый здесь термин «носитель» относится к любому эксципиенту, разбавителю, наполнителю, соли, буферу, стабилизатору, солюбилизатору, маслу, жиру, жиросодержащей везикуле, микросфере, липосомной инкапсуляции или другому материалу, хорошо известному в данной области техники, для использования в фармацевтических составах. Следует понимать, что характеристики носителя, эксципиента или разбавителя будут зависеть от пути введения для конкретного применения. Используемый здесь термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному материалу, который не влияет на эффективность композиции по изобретению или биологическую активность композиции по изобретению. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, с учетом настоящего описания, в изобретении можно использовать любой фармацевтически приемлемый носитель, подходящий для использования в фармацевтической композиции полинуклеотида, полипептида, клетки-хозяина и/или сконструированной иммунной клетки.

Составы фармацевтически активных ингредиентов с фармацевтически приемлемыми носителями известны в данной области техники, например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (например, 21-е издание 2005, и любые более поздние издания). Неограничивающие примеры дополнительных ингредиентов включают: буферы, разбавители, растворители, регуляторы тоничности, консерванты, стабилизаторы и хелатирующие агенты. Один или более фармацевтически приемлемых носителей могут применяться при составлении фармацевтических композиций по изобретению.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к способу получения фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению, включающему

объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем для получения фармацевтической композиции.

Способы применения

В другом общем аспекте, изобретение относится к способу лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток по изобретению. Рак, например, может быть выбран из, но не ограничиваться ими, рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к способу таргетирования FOLR1 на поверхность раковых клеток у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению.

В другом общем аспекте, настоящее изобретение относится к способу лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению. Раком может быть любой гемобластоз или солидный рак, например, он может быть выбран из, но не ограничиваясь этим, рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

Согласно вариантам осуществления изобретения, CAR-T-клетка или CAR-NK-клетки содержат терапевтически эффективное количество экспрессированных CAR по изобретению, и фармацевтические композиции содержат «терапевтически эффективное количество» гуманизированного моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Используемый здесь термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного ингредиента или компонента, которое вызывает желаемый биологический или лекарственный ответ у субъекта. Терапевтически эффективное количество может быть определено эмпирически и обычным способом в соответствии с заявленной целью.

Как используется в настоящем документе со ссылкой на CAR, терапевтически

эффективное количество означает количество молекулы CAR, экспрессируемой в трансдуцированной Т-клетке или NK-клетке, которое модулирует иммунный ответ у субъекта, нуждающегося в этом. Кроме того, как используется в настоящем описании со ссылкой на CAR, терапевтически эффективное количество означает количество CAR молекулы, экспрессированной в трансдуцированной Т-клетке или NK-клетке, которое приводит к лечению заболевания, нарушения или состояния; предотвращает или замедляет прогрессирование заболевания, нарушения или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, нарушением или состоянием.

Как используется в настоящем описании со ссылкой на CAR-T-клетку или CAR-NK-клетку, терапевтически эффективное количество означает количество CAR-T-клеток или CAR-NK-клеток, которое модулирует иммунный ответ у субъекта, нуждающегося в этом. Кроме того, как используется в настоящем описании со ссылкой на CAR-T клетки или CAR-NK клетки, терапевтически эффективное количество означает количество CAR-T-клеток или CAR-NK клеток, которые вызывает лечение заболевания, нарушения или состояние; предотвращает или замедляет прогрессирование заболевания, расстройства или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, нарушением или состоянием.

Как используется в настоящем описании со ссылкой на гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, терапевтически эффективное количество означает количество гуманизированного моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое модулирует иммунный ответ у субъекта, нуждающегося в этом. Кроме того, как используется в настоящем описании со ссылкой на гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, терапевтически эффективное количество означает количество гуманизированного моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое вызывает лечение заболевания, нарушения или состояния; предотвращает или замедляет прогрессирование заболевания, нарушения или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, нарушением или состоянием.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления, заболеванием, нарушением или состоянием, подлежащем лечению, является рак, предпочтительно, рак, выбранный из группы, состоящей из рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

Согласно конкретным вариантам осуществления, терапевтически эффективное

количество относится к количеству терапии, которое достаточно для достижения одного, двух, трех, четырех или несколько из следующих эффектов: (i) уменьшение или облегчение тяжести заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (ii) сокращение продолжительности заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или симптома, связанного с ним; (iii) профилактика прогрессирования заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или симптома, связанного с ним; (iv) регресс заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или симптома, связанного с ним; (v) профилактика развития или начала заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или симптома, связанного с ним; (vi) профилактика рецидива заболевания, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или симптома, связанного с ним; (vii) сокращения госпитализации субъекта, имеющего заболевание, нарушение или состояние, подлежащее лечению, или связанный с ним симптом; (viii) сокращение продолжительности госпитализации субъекта, имеющего заболевание, нарушение или состояние, подлежащее лечению, или связанный с ним симптом; (ix) увеличение выживаемости субъекта с заболеванием, нарушением или состоянием, подлежащим лечению, или симптомом, связанным с ним; (xi) подавление или уменьшение заболевание, нарушения или состояния, подлежащего лечению, или симптома, связанного с ним, у субъекта; и/или (xii) усиление или улучшение профилактического или терапевтического эффекта другой терапии.

Терапевтически эффективное количество или дозировка может варьироваться в зависимости от различных факторов, таких как заболевание, нарушение или состояние, подлежащее лечению, способы введения, мишень, физиологическое состояние субъекта (включая, например, возраст, массу тела, состояние здоровья), является ли субъект человеком или животным, другие вводимые лекарства и является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Лечебные дозировки оптимально подобраны для оптимизации безопасности и эффективности.

Согласно конкретным вариантам осуществления, описанные здесь композиции составлены таким образом, чтобы они подходили для предполагаемого пути введения субъекту. Например, описанные здесь композиции могут быть составлены таким образом, чтобы они подходили для внутривенного, подкожного или внутримышечного введения.

Клетки по изобретению могут быть введены любым удобным способом, известным специалистам в данной области техники. Например, клетки по изобретению можно вводить субъекту путем аэрозольной ингаляции, инъекции, приема внутрь, переливания, имплантации и/или трансплантации. Композиции, содержащие клетки по изобретению, могут быть введены трансартериально, подкожно, внутрикожно, внутрь опухоли, внутрь узла, интрамедуллярно, внутримышечно, интраплеврально, внутривенной (ВВ) инъекцией или внутрибрюшинно. В некоторых вариантах осуществления клетки по изобретению могут быть введены субъекту вместе с противолимфомной терапией или без нее.

Фармацевтические композиции, содержащие клетки по изобретению,

экспрессирующие CAR по изобретению, могут быть представлены в виде стерильных жидких препаратов, обычно изотонических водных растворов с суспензиями клеток или, необязательно, в виде эмульсий, дисперсий и т.п., которые обычно забуферены до выбранного pH. Композиции могут содержать носители, например воду, физиологический раствор, физиологический раствор с фосфатным буфером и подобные, подходящие для целостности и жизнеспособности клеток, а также для введения клеточной композиции.

Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем введения клеток по изобретению в подходящем количестве подходящего растворителя с различными другими ингредиентами по желанию. Такие композиции могут включать фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент, такой как стерильная вода, физиологический раствор, глюкоза, декстроза и подобные, которые подходят для использования с клеточной композицией и для введения субъекту, такому как человек. Подходящие буферы для получения клеточной композиции хорошо известны в данной области техники. Любой используемый носитель, разбавитель или добавка совместим с сохранением целостности и жизнеспособности клеток по изобретению.

Клетки по изобретению можно вводить в любом физиологически приемлемом носителе. Популяция клеток, содержащая клетки по изобретению, может включать очищенную популяцию клеток. Специалисты в данной области техники могут легко определить клетки в популяции клеток, используя различные хорошо известные способы. Диапазон чистоты клеточных популяций, содержащих генетически модифицированные клетки по изобретению, может составлять от примерно 50% до примерно 55%, от примерно 55% до примерно 60%, от примерно 60% до примерно 65%, от примерно 65% до примерно 70%. %, от примерно 70% до примерно 75%, от примерно 75% до примерно 80%, от примерно 80% до примерно 85%, от примерно 85% до примерно 90%, от примерно 90% до примерно 95% или от примерно 95% до примерно 100%. Дозировки могут быть легко скорректированы специалистами в данной области техники, например, снижение чистоты может потребовать увеличения дозировки.

Клетки по изобретению обычно вводят в дозе на основе количества клеток на килограмм (клеток/кг) массы тела субъекта, которому вводят клетки. Обычно дозы клеток находятся в диапазоне от примерно 10^4 до примерно 10^{10} клеток/кг массы тела, например, от примерно 10^5 до примерно 10^9, от примерно 10^5 до примерно 10^8, от примерно 10^5 до примерно 10^7 или от примерно 10^5 до примерно 10^6, в зависимости от способа и места введения. Обычно в случае системного введения используют более высокую дозу, чем при местном введении, когда иммунные клетки по изобретению вводят в область опухоли и/или рака. Типовые диапазоны доз включают, но не ограничиваются ими, от 1×104 до 1×108, от 2×104 до 1×108, от 3×104 до 1×108, от 4×104 до 1×108, от 5×104 до 6×108, от 7×104 до 1×108, от 8×104 до 1×108, от 9×104 до 1×108, от 1×105 до 1×108, от 1×105 до 9×107, от 1×105 до 8×107, от 1×105 до 7×107, от 1×105 до 6×107, от 1×105 до 5×107, от 1×105 до 4×107, от 1×105 до 4×107, от 1×105 до 3×107, от 1×105 до 2×107, от 1×105 до 1×107, от 1×105 до 9×106, от 1×105 до 8×106, от 1×105 до 7×106, от 1×105 до 6×106, от

1×105 до 5×106, от 1×105 до 4×106, от 1×105 до 4×106, от 1×105 до 3×106, от 1×105 до 2×106, от 1×105 до 1×106, от 2×105 до 9×107, от 2×105 до 8×107, от 2×105 до 7×107, от 2×105 до 6×107, от 2×105 до 5×107, от 2×105 до 4×107, от 2×105 до 4×107, от 2×105 до 3×107, от 2×105 до 2×107, от 2×105 до 1×107, от 2×105 до 9×106, от 2×105 до 8×106, от 2×105 до 7×106, от 2×105 до 6×106, от 2×105 до 5×106, от 2×105 до 4×106, от 2×105 до 4×106, от 2×105 до 3×106, от 2×105 до 2×106, от 2×105 до 1×106, от 3×105 до 3×106 клеток/кг и подобные. Кроме того, доза может быть скорректирована с учетом того, вводят ли однократную дозу или вводят несколько доз. Точное определение того, какая доза будет считаться эффективной, может быть основано на факторах, индивидуальных для каждого субъекта.

Используемые здесь термины «лечить», «лечение» и «лечение» предназначены для обозначения облегчения или отмены по меньшей мере одного измеримого физического параметра, связанного с раком, который не обязательно проявляется у субъекта, но может проявляться у субъекта. Термины «лечить», «лечение» и «лечение» также могут относиться к регрессу, профилактике прогрессирования или по меньшей мере замедлению прогрессирования заболевания, нарушения или состояния. В конкретном варианте осуществления, «лечить», «лечить» и «лечение» относятся к облегчению, профилактике развития или начала или сокращению продолжительности одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием, нарушением или состоянием, например в виде опухоли или, более предпочтительно, рака. В конкретном варианте осуществления, «лечить», «лечить» и «лечение» относятся к профилактике рецидива заболевания, нарушения или состояния. В конкретном варианте осуществления, «лечить», «лечить» и «лечение» относятся к увеличению выживаемости субъекта, страдающего заболеванием, нарушением или состоянием. В конкретном варианте осуществления, «лечить», «лечить» и «лечение» относятся к устранению заболевания, нарушения или состояния у субъекта.

Согласно конкретным вариантам осуществления представлены композиции, используемые для лечения рака. Для лечения рака предлагаемые композиции можно использовать в сочетании с другим лечением, включая, но не ограничиваться ими, химиотерапию, анти-CD20 mAb, анти-TIM-3 mAb, анти-LAG-3 mAb, анти-EGFR mAb, анти-HER-2 mAb, анти-CD19 mAb, анти-CD33 mAb, анти-CD47 mAb, анти-CD73 mAb, анти-DLL-3 mAb, анти-апелиновое mAb, анти-TIP-1 mAb, анти-FOLR1 mAb, анти-CTLA-4 mAb, анти-PD-L1 mAb, анти-PD-1 mAb, другие иммуноонкологические препараты, антиангиогенный агент, радиационную терапию, конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), таргетную терапию или другие противоопухолевые препараты.

Согласно конкретным вариантам осуществления, способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включают введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток по изобретению в комбинации с агентом, который увеличивает эффективность клеток, экспрессирующих молекулу CAR. Такие агенты включают, но не ограничиваются ими, фрагмент антитела, который связывается с CD73, CD39, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3 или LAG-3, или антагонист рецептора аденозина A2a.

Согласно конкретным вариантам осуществления, способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включают введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток по изобретению в комбинации с агентом, который улучшает одну или несколько побочных эффектов, связанных с введением клетки, экспрессирующей молекулу CAR. Такие агенты включают, но не ограничиваются ими, стероид, ингибитор TNFα или ингибитор IL-6.

Согласно конкретным вариантам осуществления, способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включают введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток по изобретению в комбинации с агентом, который лечит заболевание, связанное с FOLR1. Такие агенты включают, но не ограничиваются ими, анти-FOLR1 моноклональное антитело или биспецифическое антитело.

Используемый здесь термин «в комбинации» в контексте введения субъекту двух или несколько терапий относится к применению более чем одной терапии. Использование термина «в комбинации» не ограничивает порядок, в котором терапия вводится субъекту. Например, первая терапия (например, композиция, описанная здесь) может вводиться до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов). часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделя, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновременно или после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделя, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) введения субъекту второй терапии.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Изобретение представляет также следующие неограничивающие варианты осуществления.

Вариантом осуществления 1 является выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR), где CAR содержит: (a) внеклеточный домен, содержащийпо меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывает фолатный рецептор 1 (FOLR1); (b) шарнирную область; (c) трансмембранную область; и (d) внутриклеточный сигнальный домен.

Вариантом осуществления 2 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления 1, в котором антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 17, 18, 19, 41, 42 и 43, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 20, 21, 22, 44, 45 и 46, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 23, 24, 25, 47, 48 и 49, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 26, 27, 28, 50, 51 и 52, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 29, 30, 31, 53, 54 и 55, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 32, 33, 34, 56, 57 и 58, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 35, 36, 37, 59, 60 и 61, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 38, 39, 40, 62, 63 и 64, соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

Вариантом осуществления 3 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления 1, в котором антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 65, 66, 67, 89, 90 и 91, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 68, 69, 70, 92, 93 и 94, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 71, 72, 73, 95, 96 и 97, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 74, 75, 76, 98, 99 и 100, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 77, 78, 79, 101, 102 и 103, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 104, 105 и 106, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 83, 84, 85, 107, 108 и 109, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 86, 87, 88, 110, 111 и 112, соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

Вариантом осуществления 4 является выделенный полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-3, в котором антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичную последовательности SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 или 15, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 или 16.

Вариантом осуществления 5 является выделенный полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-4, где антигенсвязывающий домен содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 4;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 5, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 6;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 8;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 10;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 11, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 13, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 14; или

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16.

Вариантом осуществления 6 является выделенный полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-4, в котором антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%., по меньшей мере на 98% или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

Вариантом осуществления 7 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления 6, в котором антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

Вариантом осуществления 8 является выделенный полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-7, где антигенсвязывающим доменом является одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

Вариантом осуществления 9 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления 8, в котором одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) является гуманизированным.

Вариантом осуществления 10 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления 8 или 9, где одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) содержит полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 159-170.

Вариантом осуществления 11 является выделенный полинуклеотид по любому одному из вариантов осуществления 1-10, в котором химерный антигенный рецептор (CAR) содержит один или более антигенсвязывающих доменов.

Вариантом осуществления 12 является выделенный полинуклеотид по любому одному из вариантов осуществления 1-11, в котором внутриклеточный сигнальный домен CAR содержит один или более костимулирующих доменов и один или более активирующих доменов.

Вариантом осуществления 13 является химерный антигенный рецептор (CAR), кодируемый выделенным полинуклеотидом по любому из вариантов осуществления 1-12.

Вариантом осуществления 14 является вектор, содержащий выделенный полинуклеотид по любому из вариантов осуществления 1-12.

Вариантом осуществления 15 является клетка-хозяин, содержащая вектор из

варианта осуществления 14.

Вариантом осуществления 16 является клетка-хозяин по варианту осуществления 15, где клеткой является CAR-T-клетка, предпочтительно CAR-T-клетка человека.

Вариантом осуществления 17 является клетка-хозяин по варианту осуществления 15, где клеткой является клетка CAR-NK, предпочтительно клетка CAR-NK человека.

Вариантом осуществления 18 является способ получения клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает стадии трансдукции Т-клетки с вектором по варианту осуществления 14.

Вариантом осуществления 19 является способ получения химерного антигенного рецептора (CAR)-Т клетки, где указанный способ содержит культивирование Т-клетки, содержащей выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по любому из вариантов осуществления 1-12 в условиях получения CAR-T-клетки и выделения CAR-T-клетки.

Вариантом осуществления 20 является способ изготовления клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает стадии трансдукции клетки NK с вектором по варианту осуществления 14.

Вариантом осуществления 21 является способ получения химерного антигенного рецептора (CAR)-NK клеток, где указанный способ включает культивирование NK-клетки, содержащие выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по любому одному из вариантов осуществления 1-12 в условиях получения CAR-NK клетки и восстановления CAR-NK клетки.

Вариантом осуществления 22 является способ получения клетки, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает контакт клетки с выделенным полинуклеотидом, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по любому из вариантов осуществления 1-12, где выделенным полинуклеотидом является in vitro транскрибированная РНК или синтетическая РНК.

Вариантом осуществления 23 является способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, где способ включает введение субъекту клетки-хозяина по любому из вариантов осуществления 15-17.

Вариантом осуществления 24 является способ по варианту осуществления 23, в котором рак выбран из рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

Вариантом осуществления 25 является способ по варианту осуществления 23 или 24, дополнительно включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который увеличивает эффективность клетки, экспрессирующей CAR.

Вариантом осуществления 26 является способ по варианту осуществления 23 или 24, дополнительно включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который ослабляет один или более побочных эффектов, связанных с введением клетки, экспрессирующей CAR.

Вариантом осуществления 27 является способ по варианту осуществления 23 или 24, дополнительно включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который лечит заболевание, связанное с FOLR1.

Вариантом осуществления 28 является гуманизированное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

Вариантом осуществления 29 является гуманизированное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с вариантом осуществления 28, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

Вариантом осуществления 30 является гуманизированное моноклональное анти-FOLR1антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 28 или 29, где моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способны связывать FOLR1, индуцируя эффектор-опосредованный лизис опухолевых клеток, опосредующий привлечение конъюгированных лекарственных средств, и/или образуя биспецифическое антитело с другим моноклональным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, с получением эффекта уничтожения рака.

Вариантом осуществления 31 является выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 28-30.

Вариантом осуществления 32 является вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту из варианта осуществления 31.

Вариантом осуществления 33 является клетка-хозяин, содержащая вектор из варианта осуществления 32.

Вариантом осуществления 34 является фармацевтическая композиция, содержащая выделенное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 28-30, и фармацевтический приемлемый носитель.

Вариантом осуществления 35 является способ таргетирования FOLR1 на поверхность раковых клеток субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 28-30.

Вариантом осуществления 36 является способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по варианту осуществления 34.

Вариантом осуществления 37 является способ по варианту осуществления 36, в котором рак выбран из рака легких, рака желудка, рака толстой кишки,

гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

Вариантом осуществления 38 является способ получения моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из вариантов осуществления 28-30, включающий культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

Вариантом осуществления 39 является способ получения фармацевтической композиции по варианту осуществления 34, включающий объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Идентификация антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Антигенсвязывающие домены, которые специфически связывают FOLR1, являющиеся анти-FOLR1 mAb, выделяют и секвенируют, как описано в PCT № PCT/US2019/021084, поданной 27 марта, 2019, которая включена в настоящее описание в качестве ссылки во всей своей полноте.

Последовательности вариабельных областей тяжелой и легкой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1 представлены в таблицах 1 и 2, и CDR области для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1 представлены в таблицах 3-6.

Таблица 1: Последовательности вариабельных областей тяжелой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	**VH**	**SEQ ID NO:**
F4	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWVAFISSGSNTIYYADIVKGRFAISRDNAKNTLFLQMASLRSEDTALYYCARLAEWDVAYWGQGTLVTVSA	1

F5	EVQLVESGGELVKPGGSLKLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQTPDKRLE WVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNDKNTLYLQMSSLKSEDTAM YYCSTQGSSGYVGYWGQGTTLTVSS	3
F7	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNWVKQSNGKSLE WIGVIDPNYGTTNYNQKFVGKATLTVDQSSITAYMQLNSLTAEDSAV YFCAIKGYGNPAAYWGQGTLVTVSA	5
F8	EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSCVASGFTLSTYAMSWVRQTPEKRLE WVATISGGGGDTYHLDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRSEDTAL YYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTTLTVSS	7
F10	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWVRQRPGKGLE WIGRIYPGDGYTHYNGMFKGKATLTADKSSSTGYMQLSSLTSEDSAV YFCTRHGDFPYWYFDVWGTGTTVTVSS	9
F17	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSDFGMHWIRQAPERGLE WVAYMSYTPGTFHYADTVKDRFFISRDNAKNTLFLQMTSLRSDDTA MYYCARVHVGTVDYWGQGTSVTVSS	11
F19	EVKLDETGGGLVQPGRPMKLSCVASGFTFSDYWMNWVRQSPDKGL EWVAQIGNKFHNYETYYSDSVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRVED TGIYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTSVTVSS	13
F20	QVQLQQSGAELVKPGASVQLSCKASGYTFASYYLYWVKQRPGQGLE WIGEINPRSGGTNFNEKFKSKATVTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY YCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTSVTVSS	15

VH: вариабельная область тяжелой цепи

Таблица 2: Последовательности вариабельных областей легкой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	**VL**	**SEQ ID NO:**
F4	DIVLTQSPATLSVTPGDRISLSCRASQNINNNLHWYQQKSHESPR LLIKFASQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLNINGVETEDFGMYFCQQIY SWPQLTFGAGTRLELK	2
F5	DIQMTQSPSSLSAFLGGKVTITCKASQDITNFIGWYQHKPGKGPR LLISYTSILESGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCLQYYN LWTFGGGTKLEIK	4
F7	DIQMTQSPSSLSASLGGKVTITCKASQDINKYLAWYQHEPGKGP RLLIRYTSILESGIPSRFSGSGSGRDYSFSISNLEPEDIATYYCLQYY	6

	NLWTFGGGTKLEIK	
F8	DIQMTQSPASLSASVGEIVTIICRVSENIDSYLAWYQQKQGKSPQ LLVYAATNLADGVPSRFSGSGSGSQYSLKINSLQSEDVARYYCQ HYYTTPPTFGGGTKLDIK	8
F10	DIQMTQSPASLSASVGESVTITCRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQ LLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTQYTLKINSLQSEDVARYYCQ HHYSTPPTFGGGTKLEIK	10
F17	DVVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQNINNNLHWFQQKSHESP RLLIKYASQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINNVETEDFGIYFCQQS NSWPALTFGTGTKVELK	12
F19	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTLNCRASQDITNHLNWFQQKPDGTF QLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDFATYFCQQ DSQHPWTFGGGTKLEIK	14
F20	NIVMTQSPKSMSVSVGERVTLSCKAGENVGSYVSWYQQKPEQS PELLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYYC GQTYRFLTFGAGTKLELK	16

VL: вариабельная область легкой цепи

Таблица 3: CDR области 1-3 тяжелой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	**HC CDR1**	**NO**	**HC CDR2**	**NO**	**HC CDR3**	**NO**
F4	GFTFSDYG	17	ISSGSNTI	18	ARLAEWDVAY	19
F5	GFTFSNYG	20	ISSGGSYT	21	STQGSSGYVGY	22
F7	GYSFTDYN	23	IDPNYGTT	24	AIKGYGNPAAY	25
F8	GFTLSTYA	26	ISGGGGDT	27	ARQSHYGSSYYFDN	28
F10	GYAFSSSW	29	IYPGDGYT	30	TRHGDFPYWYFDV	31
F17	GFTFSDFG	32	MSYTPGTF	33	ARVHVGTVDY	34
F19	GFTFSDYW	35	IGNKFHNYET	36	TKLGRGYYVMDY	37
F20	GYTFASYY	38	INPRSGGT	39	SRSGRLRGFYTMDY	40

HC: тяжелая цепь; CDR: определяющая комплементарность область; NO: SEQ ID NO

CDR HC для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1, определяют с использованием способа IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212).

Таблица 4: CDR-области 1-3 легкой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	**LC CDR1**	**NO**	**LC CDR2**	**NO**	**LC CDR3**	**NO**
F4	QNINNN	41	FAS	42	QQIYSWPQLT	43
F5	QDITNF	44	YTS	45	LQYYNLWT	46
F7	QDINKY	47	YTS	48	LQYYNLWT	49
F8	ENIDSY	50	AAT	51	QHYYTTPPT	52
F10	ENIDSY	53	AAT	54	QHHYSTPPT	55
F17	QNINNN	56	YAS	57	QQSNSWPALT	58
F19	QDITNH	59	YTS	60	QQDSQHPWT	61
F20	ENVGSY	62	GAS	63	GQTYRFLT	64

LC: легкая цепь; CDR: определяющая комплементарность область; NO: SEQ ID NO

LC CDR для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1, определяют с использованием способа IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212).

Таблица 5: CDR-участки 1-3 тяжелой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	**HC CDR1**	**NO**	**HC CDR2**	**NO**	**HC CDR3**	**NO**
F4	GFTFSDYGMH	65	FISSGSNTIYYADIVKG	66	ARLAEWDVAY	67
F5	GFTFSNYGMS	68	TISSGGSYTYYPDSVKG	69	STQGSSGYVGY	70
F7	GYSFTDYNMN	71	VIDPNYGTTNYNQKFVG	72	AIKGYGNPAAY	73
F8	GFTLSTYAMS	74	TISGGGGDTYHLDTVKG	75	ARQSHYGSSYYFDN	76
F10	GYAFSSSWMN	77	RIYPGDGYTHYNGMFKG	78	TRHGDFPYWYFDV	79
F17	GFTFSDFGMH	80	YMSYTPGTFHYADTVKD	81	ARVHVGTVDY	82
F19	GFTFSDYWMN	83	QIGNKFHNYETYYSDSVKG	84	TKLGRGYYVMDY	85

F20	GYTFASYYLY	86	EINPRSGGTNFNEKFKS	87	SRSGRLRGFYTMDY	88

HC: тяжелая цепь; CDR: определяющая комплементарность область; NO: SEQ ID NO

HC CDR для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1 определяют с использованием комбинации способов IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212) и Kabat (Elvin A. Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest 5th ed. 1991).

Таблица 6: CDR-участки 1-3 легкой цепи для антигенсвязывающих доменов, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	**LC CDR1**	**NO**	**LC CDR2**	**NO**	**LC CDR3**	**NO**
F4	RASQNINNNLH	89	FASQSIS	90	QQIYSWPQLT	91
F5	KASQDITNFIG	92	YTSILES	93	LQYYNLWT	94
F7	KASQDINKYLA	95	YTSILES	96	LQYYNLWT	97
F8	RVSENIDSYLA	98	AATNLAD	99	QHYYTTPPT	100
F10	RASENIDSYLA	101	AATNLAV	102	QHHYSTPPT	103
F17	RASQNINNNLH	104	YASQSIS	105	QQSNSWPALT	106
F19	RASQDITNHLN	107	YTSRLHS	108	QQDSQHPWT	109
F20	KAGENVGSYVS	110	GASNRYT	111	GQTYRFLT	112

LC: легкая цепь; CDR: определяющая комплементарность область; NO: SEQ ID NO

LC CDR, для антигенсвязывающие домены, которые специфически связывают FOLR1 определяют с использованием комбинации способов IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212) и Kabat (Elvin A. Kabat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest 5th ed. 1991).

Пример 2: Гуманизация анти-FOLR1 mAb мыши

Анти-FOLR1 mAb мыши гуманизируют для снижения потенциала иммуногенности при использовании у людей, как описано в PCT № PCT/US2019/021084, поданной 7 марта 2019 г., которая включена в настоящее описание в качестве ссылки полностью. Последовательности гуманизированных VH и VL областей приведены в таблице 7. Гуманизированные VH и VL называют следующим образом: F5-H1 относится к последовательности H1 гуманизированной VH для mAb мыши F5; F5-L1 относится к последовательности L1 гуманизированной VL для mAb F5 мыши. Все остальные гуманизированные области VH и VL принимают то же правило наименования.

Таблица 7: Последовательности вариабельных областей тяжелой цепи и легкой цепи, гуманизированных антигенсвязывающих доменов, которые специфически

связывают FOLR1

VH/VL	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	SEQ ID NO:
F5-H1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	113
F5-H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	114
F5-H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	115
F5-H4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNDKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	116
F5-L1	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQDITNFIGWYQHKPGKAPKLLISYTSILESGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYYNLWTFGGGTKVEIK	117
F5-L2	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQDITNFIGWYQHKPGKAPKLLISYTSILESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYYNLWTFGGGTKVEIK	118
F10-H1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSSWMNWVRQAPGQGLEWIGRIYPGDGYTHYNGMFKGRASLTADKSTSTGYMELSSLRSEDTAVFFCTRHGDFPYWYFDVWGRGTLVTVSP	119
F10-H2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSSWMNWVRQAPGQGLEWIGRIYPGDGYTHYNGMFKGRASLTADKSTSTGYMELSSLRSEDTAVFFCTRHGDFPYWYFDVWGRGTLVTVSS	120
F10-L1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIDSYLAWYQQKPGRAPKLLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQSDDFATYYCQHHYSTPPTFGQGTKLEIK	121
F10-L2	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIDSYLAWYQQKPGRAPKLLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQHHYSTPP	122

	TFGQGTKLEIK	
F10-L3	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIDSYLAWYQQKPGRAPKLLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQSEDFATYYCQHHYSTPPTFGQGTKLEIK	123
F17-H1	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGMHWIRQAPGKGLEWVAYMSYTPGTFHYADTVKDRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVHVGTVDYWGQGTLVTVSS	124
F17-H2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDFGMHWIRQAPGKGLEWVAYMSYTPGTFHYADTVKDRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVHVGTVDYWGQGTLVTVSS	125
F17-L1	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNINNNLHWFQQKPGQAPRLLIKYASQSISGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFCQQSNSWPALTFGQGTKVEIK	126
F17-L2	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNINNNLHWFQQKPGQAPRLLIKYASQSISGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLETEDFAVYFCQQSNSWPALTFGQGTKVEIK	127
F20-H1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFASYYLYWVRQAPGQGLEWIGEINPRSGGTNFNEKFKSRATVTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTLVTVSS	128
F20-H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFASYYLYWVRQAPGQGLEWIGEINPRSGGTNFNEKFKSRATVTVDASTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTLVTVSS	129
F20-H3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFASYYLYWVRQAPGQGLEWIGEINPRSGGTNFNEKFKSKATVTVDKSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTLVTVSS	130
F20-L1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKAGENVGSYVSWYQQKPGQPPKLLIYGASNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQTYRFLTFGQGTKVEIK	131
F20-L2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKAGENVGSYVSWYQQKPGQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQTYRFLTFGQGTKVEIK	132
F20-L3	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKAGENVGSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSATEFTLTISSLQPDDFATYYCGQTYRFLTFGQGTKVEVK	133

F20-L4	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKAGENVGSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSATEFTLTISSLQPEDFATYYCGQTYRFLTFGQGTKVEVK	134
F4-H1	QVQLVQSGAEVRKPGASVKVSCKASGFTFSDYGMHWVRQAPGQGLEWVAFISSGSNTIYYADIVKGRFTITRNNSTSTLYMELSSLRSEDTAIYYCARLAEWDVAYWGAGTLVTVSS	136
F4-H2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFSDYGMHWVRQAPGQGLEWVAFISSGSNTIYYADIVKGRVTITRNNSTSTLYMELSSLRSEDTAIYYCARLAEWDVAYWGAGTLVTVSS	137
F4-H3	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAGISSGSNTIGYADS\VQGRFTISRDNGKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARLAEWDVAYWGQGTMVTVSS	138
F4-L1	DIQLTQSPSTLSASIGDRVTITCRASQNINNNLHWYQQKPGKAPKLLIKFASQSISGAPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYFCQQIYSWPQLTFGGGTKLEIK	139
F4-L2	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNINNNLHWYQQKPGKAPKLLIKFASQSISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYFCQQIYSWPQLTFGGGTKLEIK	140
F4-L3	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQNINNNLHWYQQKPGQAPRLLIKFASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDLAVYFCQQIYSWPQLTFGQGTKVEIK	141
F7-H1	QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNMHWVRQAPGQGLEWIGWIDPNYGTTNYAQKFQGRATLTVDQSISTAYMELSRLRSDDTAVYFCAIKGYGNPAAYWGQGTLVTVSS	142
F7-H2	EFQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFTDYNFTWVRQAPGQGLEWIGRIDPNYGTTHYAPHLQGRATLTVDQSTSTAYLELRNLRSDDTAVYFCAIKGYGNPAAYWGQGTLVTVSS	143
F7-H3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNFTWVRQAPGQGLEWIGRIDPNYGTTHYAPHLQGRATLTVDQSTSTAYLELRSLRSDDTAVYFCAIKGYGNPAAYWGQGTLVTVSS	144
F7-L1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQDINKYLAWYQHKPGQPPKLLIRYTSTRESGVPDRFSGSGSGRDYTLTISSLQAEDVAVYYCLQYYNLWTFGGGTKVEIK	145
F7-L2	DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQDINKYLAWYQHKPGQAPRLLI	146

	RYTSTRATGVPARFSGSGSGREYTLTISSLQSEDFAVYYCLQYYNLWTFGQGTRLEIK	
F7-L3	DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQDINKYLAWYQHKPGQAPRLLIRYTSTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCLQYYNLWTFGQGTRLEIK	147
F8-H1	LVNLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSTYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISGGGGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVFYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTLVTVSS	148
F8-H2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSTYAMNWVRQAPAKGLEWVAIISGGGGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTLVTVSS	149
F8-H3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSTYAMSWVRQAPAKGLEWVAIISGGGGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNGLRAEDTAVYYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTLVTVSS	150
F8-L1	EIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRVSENIDSYLAWYQQKPGQAPRLLVYAATNRATGIPARFSGSGSGSDYTLTISSLEPEDFAVYYCQHYYTTPPTFGQGTKVEIK	151
F8-L2	EIVMTQSPDFQSVTPKEKVTITCRVSENIDSYLAWYQQKPDQSPKLLVYAATQSFSGVPSRFSGSGSGSDYTLTINSLEAEDAAAYYCQHYYTTPPTFGPGTKVDIK	152
F8-L3	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRVSENIDSYLAWYQQKPDQSPKLLVYAATQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAAAYYCQHYYTTPPTFGPGTKVDIK	153
F19-H1	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCTASGFTFSDYWMNWVRQPPGRGLEWVAFIGNKFHNYETEYNPSVKGRFTILRDDSKNQVSLRLSSVTAADTAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGSLVTVSS	154
F19-H2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTASGFTFSDYWMNWVRQPPGKGLEWVAFIGNKFHNYETEYNPSVKGRFTILRDDSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGSLVTVSS	155
F19-H3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYWMNWVRQAPGKGLEWVAIIGNKFHNYETYYADSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNGLRAEDTAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	156
F19-L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDITNHLNWFQQKPGKAFKLLIYYTSNLQTGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYFCQQDSQHPWT	157

	FGQGTKVEIK	
F19-L2	EIVMTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDITNHLNWFQQKPDQSFKLLIY YTSQSFSGVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAAAYFCQQDSQHPWT FGPGTKVDIK	158
F8-H4	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTLSTYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGGGGDTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAV YYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTMVTVSS	171
F8-H5	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTLSTYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGGGGDTYHLDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLRAEDTAV YYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTMVTVSS	172
F8-H6	EVQLVVSGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTLSTYAMTWVRQAPGKGLE WVAVISGGGGDTYYADSVVGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARQSHYGSSYYFDNWGQGTLVTVSS	173
F19-H4	EVVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWISWVRQAPGKGLE WVAHIGNKFHNYETDYADSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	174
F19-H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWISWVRQAPGKGLE WVAHIGNKFHNYETDYADSVKGRFTISKDDSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	175
F19-H6	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQAPGKGLE WVAVIGNKFHNYETYYADSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTTVTVSS	176
F19-H7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMNWVRQAPGKGLE WVAHIGNKFHNYETDYADSVKGRFTISKDDSKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	177
F19-H8	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQAPGKGLE WVAVIGNKFHNYETYYTDSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNTLRAED TAVYYCTKLGRGYYVMDYWGKGTTVTVSS	178
F19-H9	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQAPGKGLE WVAVIGNKFHNYETYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCTKLGRGYYVMDYWGKGTTVTVSS	179
F19-H10	QVVLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQAPGKGLE WVASIGNKFHNYETYYADSVKGRFTISRDDSKNTVYLQMNSLFAEDT AVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	180

F19-H11	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMHWVRQAPGKGLEWVAFIGNKFHNYETYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	181
F19-H12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSDYWMNWVRQAPGKGLEWVAQIGNKFHNYETYYSDSVKGRFTISKDDSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCTKLGRGYYVMDYWGQGTLVTVSS	182
F5-H5	QVELVESGGGVVQPGRSLRLDCKVSGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISSGGSYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	183
F5-H6	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCKVSGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISSGGSYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	184
F8-L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSENIDSYLAWYQQKPGKAPKLLVYAATSLQSGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFAVYYCQHYYTTPPTFGDGTKVEIK	185
F8-L5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSENIDSYLAWYQQKPGKAPKLLVYAATNLASGVPSRFSGSGSGSDYTLTISSLQPEDFAVYYCQHYYTTPPTFGDGTKVEIK	186
F8-L6	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRVSENIDSYLAWYQQKPGKAPKLLVYAATSLESGVPSRFSGSGSGSEYTLTISSLQPDDFATYYCQHYYTTPPTFGQGTKVDIK	187
F19-L3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNHLNWFQQKPGKAFKLLIYYTSSRASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQDSQHPWTFGQGTKVEIK	188
F19-L4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNHLNWFQQKPGKAFKLLIYYTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQDSQHPWTFGPGTKVEIK	189
F19-L5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNHLNWFQQKPGKAFKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQDSQHPWTFGGGTKVEIK	190
F19-L8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNHLNWFQQKPGKAFKLLIYYTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQDSQHPWTFGGGTKVEIK	191
F19-L9	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNHLNWYQQKPGKAPKLLI	192

	YYTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDSQHPWTFGGGTKVEIK	
F19-L10	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDITNHLNWFQQKPGQAFRLLIYYTSSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFCQQDSQHPWTFGQGTKVEIK	193
F19-L11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDITNHLAWYQQKPGQAPRLLIYYTSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQDSQHPWTFGQGTKVEIK	194
F5-L3	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDITNFLGWYQHKPGEAPKLLISYTSVLQSGVPSRFSGSGSGRDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYYNLWTFGQGTKVEIK	195
F5-L4	EIVMTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDITNFIGWYQHKPDQSPKLLISYTSQSFSGVPSRFSGSGSGRDYTLTINSLEAEDAAAYYCLQYYNLWTFGPGTKVDIK	196
F5-L5	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDITNFLGWYQHKPGQAPRLLISYTSNRATGIPARFSGSGSGRDYTLTISSLEPEDFAVYYCLQYYNLWTFGQGTKVEIK	197
F5-L6	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDITNFLGWYQQKPGQAPRLLISYTSIRATGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCLQYYNLWTFGQGTKVEIK	198

Гуманизированные VH и VL области сливают с константными областями тяжелой цепи и легкой цепи каппа IgG1 человека, соответственно. Гуманизированные mAb называют следующим образом: F5-H1L1 относится к mAb с F5-H1 вариабельной областью тяжелой цепи и F5-L1 вариабельной областью легкой цепи; все другие гуманизированные mAb принимают то же правило наименования

Пример 3: Превращение гуманизированных mAb в одноцепочечные вариабельные фрагменты (scFv)

Гуманизированные mAb превращают в были преобразованы в scFv, каждый из которых состоит из одной VH и одной VL с $(G_4S)_n$ линкером между ними (где «n» равно числу G_4S повторов). Либо VH, либо VL область помещают на N-конце слитого белка, чтобы определить наиболее эффективные дизайны scFv. Последовательности сконструированных scFv показаны в таблице 9. scFv были названы следующим образом: F5-H2$(G_4S)_3$L2 относится к scFv с F5-H2 вариабельной области тяжелой цепи, $(G_4S)_3$ линкером и F5-L2 вариабельной области легкой цепи; все остальные scFv используют то же правило наименования.

Таблица 9: Последовательности гуманизированных scFv, которые специфически связывают FOLR1

Наименование	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	SEQ ID NO:
F5-H2(G4S)3L2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQDITNFIGWYQHKPGKAPKLLISYTSILESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYYNLWTFGGGTKVEIK	159
F5-H2(G4S)4L2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQDITNFIGWYQHKPGKAPKLLISYTSILESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYYNLWTFGGGTKVEIK	160
F5-L2(G4S)3H2	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQDITNFIGWYQHKPGKAPKLLISYTSILESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQYYNLWTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCSTQGSSGYVGYWGQGTLVTVSS	161
F10-H1(G4S)3L2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSSWMNWVRQAPGQGLEWIGRIYPGDGYTHYNGMFKGRASLTADKSTSTGYMELSSLRSEDTAVFFCTRHGDFPYWYFDVWGRGTLVTVSPGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIDSYLAWYQQKPGRAPKLLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQHHYSTPPTFGQGTKLEIK	162
F10-H1(G4S)4L2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSSWMNWVRQAPGQGLEWIGRIYPGDGYTHYNGMFKGRASLTADKSTSTGYMELSSLRSEDTAVFFCTRHGDFPYWYFDVWGRGTLVTVSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIDSYLAWYQQKPGRAPKLLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQHHYSTPPTFGQGTKLEIK	163
F10-L2(G4S)3H1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASENIDSYLAWYQQKPGRAPKLLVYAATNLAVGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQHHYSTPPTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQL	164

	VQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSSSWMNWVRQAPGQG LEWIGRIYPGDGYTHYNGMFKGRASLTADKSTSTGYMELSS LRSEDTAVFFCTRHGDFPYWYFDVWGRGTLVTVSP	
F17-H1(G4S)3L2	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGMHWIRQAPG KGLEWVAYMSYTPGTFHYADTVKDRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVHVGTVDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNINNNL HWFQQKPGQAPRLLIKYASQSISGIPARFSGSGSGTDFTLTISS LETEDFAVYFCQQSNSWPALTFGQGTKVEIK	165
F17-H1(G4S)4L2	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGMHWIRQAPG KGLEWVAYMSYTPGTFHYADTVKDRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVHVGTVDYWGQGTLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQN INNNLHWFQQKPGQAPRLLIKYASQSISGIPARFSGSGSGTDF TLTISSLETEDFAVYFCQQSNSWPALTFGQGTKVEIK	166
F17-L2(G4S)3H1	EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNINNNLHWFQQKPGQ APRLLIKYASQSISGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLETEDFAVYF CQQSNSWPALTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLV ETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSDFGMHWIRQAPGKGLEW VAYMSYTPGTFHYADTVKDRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARVHVGTVDYWGQGTLVTVSS	167
F20-H1(G4S)3L3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFASYYLYWVRQA PGQGLEWIGEINPRSGGTNFNEKFKSRATVTVDKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKAGENV GSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSATEF TLTISSLQPDDFATYYCGQTYRFLTFGQGTKVEVK	168
F20-H1(G4S)4L3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFASYYLYWVRQA PGQGLEWIGEINPRSGGTNFNEKFKSRATVTVDKSTSTAYME LSSLRSEDTAVYYCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCK AGENVGSYVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVPARFSGS GSATEFTLTISSLQPDDFATYYCGQTYRFLTFGQGTKVEVK	169
F20-L3(G4S)3H1	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKAGENVGSYVSWYQQKPG KAPKLLIYGASNRYTGVPARFSGSGSATEFTLTISSLQPDDFA	170

	TYYCGQTYRFLTFGQGTKVEVKGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFASYYLYWVRQAPGQ GLEWIGEINPRSGGTNFNEKFKSRATVTVDKSTSTAYMELSS LRSEDTAVYYCSRSGRLRGFYTMDYWGQGTLVTVSS	

Пример 4: ELISA анализ связывания гуманизированных mAb и scFv

Для тестирования связывания mAb и scFv с FOLR1 человека, mAb и слитые белки scFv, слитые с одним (G_4S) линкером и Fc IgG4 человека (в порядке scFv, G_4S линкер и Fc от N-конца до C-конца) получают временной экспрессией в любые из ExpiCHO или Expi203 клетки. Способ анализа связывания ELISA mAb или гуманизированных scFv описан в заявке PCT/US2019/021084, поданной 7 марта 2019 г. Результаты анализа ELISA показаны на фиг. 1A-1L и фиг. 3A-3G.

Пример 5: FACS анализ mAb и гуманизированных scFv

mAbs и scFv слитые белки также тестируют на способность связывать SK-OV-3 клетки, которые экспрессируют эндогенный FOLR1. Способ FACS анализа mAbs или гуманизированных scFv описан в PCT/US2019/021084, поданной 7 марта, 2019, с незначительными модификациями. SK-OV-3 клетки высевают в количестве 100000 клеток на лунку. В каждой лунке планшета, йодид пропидия инкубируют вместе с вторичным антителом для мечения мертвых клеток. Результаты связывания показаны на фиг. 2A-2E и фиг. 4A-4G.

Пример 6: Конструирование конструкций химерного антигенного рецептора, содержащего анти-FOLR1 моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты.

Для конструирования CAR, каждое mAb превращают в scFv с использованием VH, VL и $(G_4S)_n$ линкера, и scFv сливают с N-концом шарнира и трансмембранных доменов, полученных из CD8α человека (ак 114-188, Boursier JP et al., J Biol Chem. 1993; 268(3): 2013-20). C-концевой внутриклеточный сигнальный домен CAR конструируют слиянием с внутриклеточным костимулирующим доменом CD28 (ак 162-202, Aruffo A and Seed B, Proc Natl Acad Sci USA. 1987; 84(23):8573-7), затем с активационным доменом CD3 дзета-цепи (ак 52-162, Letourneur F and Klausner RD, Proc Natl Acad Sci USA. 1991; 88(20):8905-9). Последовательность ДНК, кодирующую CAR, собирают и клонируют в вектор для создания конструкции CAR с использованием стандартных методов клонирования молекулярной биологии.

Специалистам в данной области техники будет понятно, что изменения могут быть внесены в варианты осуществления, описанные выше, без отступления от их широкой изобретательской концепции. Поэтому понятно, что это изобретение не ограничивается конкретными описанными вариантами осуществления, но предназначено для охвата модификаций в пределах сути и объема настоящего изобретения, как определено в настоящем описании.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR), где CAR содержит:

(a) внеклеточный домен, содержащийпо меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывает фолатный рецептор 1 (FOLR1);

(b) шарнирную область;

(c) трансмембранную область; и

(d) внутриклеточный сигнальный домен.

2. Выделенный полинуклеотид по п.1, в котором антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 17, 18, 19, 41, 42 и 43, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 20, 21, 22, 44, 45 и 46, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 23, 24, 25, 47, 48 и 49, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 26, 27, 28, 50, 51 и 52, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 29, 30, 31, 53, 54 и 55, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 32, 33, 34, 56, 57 и 58, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 35, 36, 37, 59, 60 и 61, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 38, 39, 40, 62, 63 и 64, соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

3. Выделенный полинуклеотид по п.1, в котором антигенсвязывающий домен содержит определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NOs: 65, 66, 67, 89, 90 и 91, соответственно;

(2) SEQ ID NOs: 68, 69, 70, 92, 93 и 94, соответственно;

(3) SEQ ID NOs: 71, 72, 73, 95, 96 и 97, соответственно;

(4) SEQ ID NOs: 74, 75, 76, 98, 99 и 100, соответственно;

(5) SEQ ID NOs: 77, 78, 79, 101, 102 и 103, соответственно;

(6) SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 104, 105 и 106, соответственно;

(7) SEQ ID NOs: 83, 84, 85, 107, 108 и 109, соответственно; или

(8) SEQ ID NOs: 86, 87, 88, 110, 111 и 112, соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

4. Выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-3, в котором антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичную

последовательности SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 или 15, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 или 16.

5. Выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-4, в котором антигенсвязывающий домен содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 4;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 5, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 6;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 8;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 9, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 10;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 11, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 13, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 14; или

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16.

6. Выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-4, в котором антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%., по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, на по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичную любой из SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

7. Выделенный полинуклеотид по п.6, в котором антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

8. Выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-7, в котором антигенсвязывающим доменом является одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), который специфически связывает FOLR1, предпочтительно FOLR1 человека.

9. Выделенный полинуклеотид по п.8, в котором одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) является гуманизированным.

10. Выделенный полинуклеотид по п.8 или 9, в котором одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) содержит полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 159-170.

11. Выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-10, в котором химерный

антигенный рецептор (CAR) содержит один или более антигенсвязывающих доменов.

12. Выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-11, в котором внутриклеточный сигнальный домен CAR содержит один или более костимулирующих доменов и один или более активирующих доменов.

13. Химерный антигенный рецептор (CAR), кодируемый выделенным полинуклеотидом по любому из пп. 1-12.

14. Вектор, содержащий выделенный полинуклеотид по любому из пп. 1-12.

15. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п.14.

16. Клетка-хозяин по п.15, где клеткой является Т-клетка, предпочтительно Т-клетка человека.

17. Клетка-хозяин по п.15, где клеткой является NK клетка, предпочтительно NK клетка человека.

18. Способ получения клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), включающий трансдукцию Т-клетки вектором по п.14.

19. Способ получения химерного антигенного рецептора (CAR)-Т клетки, включающий культивирование Т-клетки, содержащей выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по любому из пп. 1-12 в условиях получения CAR-Т-клетки и выделения CAR-Т-клетки.

20. Способ получения клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), включающий трансдукцию клетки NK вектором по п.14.

21. Способ получения химерного антигенного рецептора (CAR)-NK клеток, включающий культивирование NK-клетки, содержащей выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по любому из пп. 1-12 в условиях получения CAR-NK клетки и восстановления CAR-NK клетки.

22. Способ получения клетки, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), включающий контакт клетки с выделенным полинуклеотидом, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по любому из пп. 1-12, где выделенным полинуклеотидом является in vitro транскрибированная РНК или синтетическая РНК.

23. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту клетки-хозяина по любому из пп. 15-17.

24. Способ по п.23, в котором рак выбран из рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

25. Способ по п.23 или 24, дополнительно включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который увеличивает эффективность клетки, экспрессирующей CAR.

26. Способ по п.23 или 24, дополнительно включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который ослабляет один или более побочных эффектов, связанных с введением клетки, экспрессирующей CAR.

27. Способ по п.23 или 24, дополнительно включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, агента, который лечит заболевание, связанное с FOLR1.

28. Гуманизированное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 113, 114, 115, 116, 119, 120, 124, 125, 128, 129, 130, 136, 137, 138, 142, 143, 144, 148, 149, 150, 154, 155, 156 или 171-184, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную любой из SEQ ID NO: 117, 118, 121, 122, 123, 126, 127, 131, 132, 133, 134, 139, 140, 141, 145, 146, 147, 151, 152, 153, 157, 158 или 185-198.

29. Гуманизированное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п.28, где указанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 115, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 117;

(8) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 116, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 118;

(9) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(10) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(11) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 119, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(12) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 121;

(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 122;

(14) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 120, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 123;

(15) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 126;

(16) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 124, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127;

(17) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(18) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(19) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(20) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(21) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(22) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(23) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(24) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 129, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134;

(25) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 131;

(26) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 132;

(27) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 133;

(28) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 130, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 134 ;

(29) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(30) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(31) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 136, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(32) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(33) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(34) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO: 137, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(35) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 139;

(36) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 140;

(37) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 138, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141;

(38) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(39) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 143, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 145;

(45) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 146;

(46) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 144, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 147;

(47) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 148, и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 151;

(48) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 153;

(49) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(50) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(51) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(52) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185;

(53) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 186;

(54) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(55) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(56) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(58) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197;

(59) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198;

(60) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 195;

(61) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 196;

(62) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 197; или

(63) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 198.

30. Гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по П.28 или 29, где моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способны связывать FOLR1, индуцируя эффектор-опосредованный лизис опухолевых клеток, опосредующий привлечение конъюгированных лекарственных средств, и/или образуя биспецифическое антитело с другим моноклональным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, с получением эффекта уничтожения рака.

31. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 28-30.

32. Вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по п.31.

33. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п.32.

34. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное анти-FOLR1 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 28-30, и фармацевтический приемлемый носитель.

35. Способ таргетирования FOLR1 на поверхность раковых клеток субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, содержащей гуманизированное моноклональное анти-FOLR1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 28-30.

36. Способ лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.34.

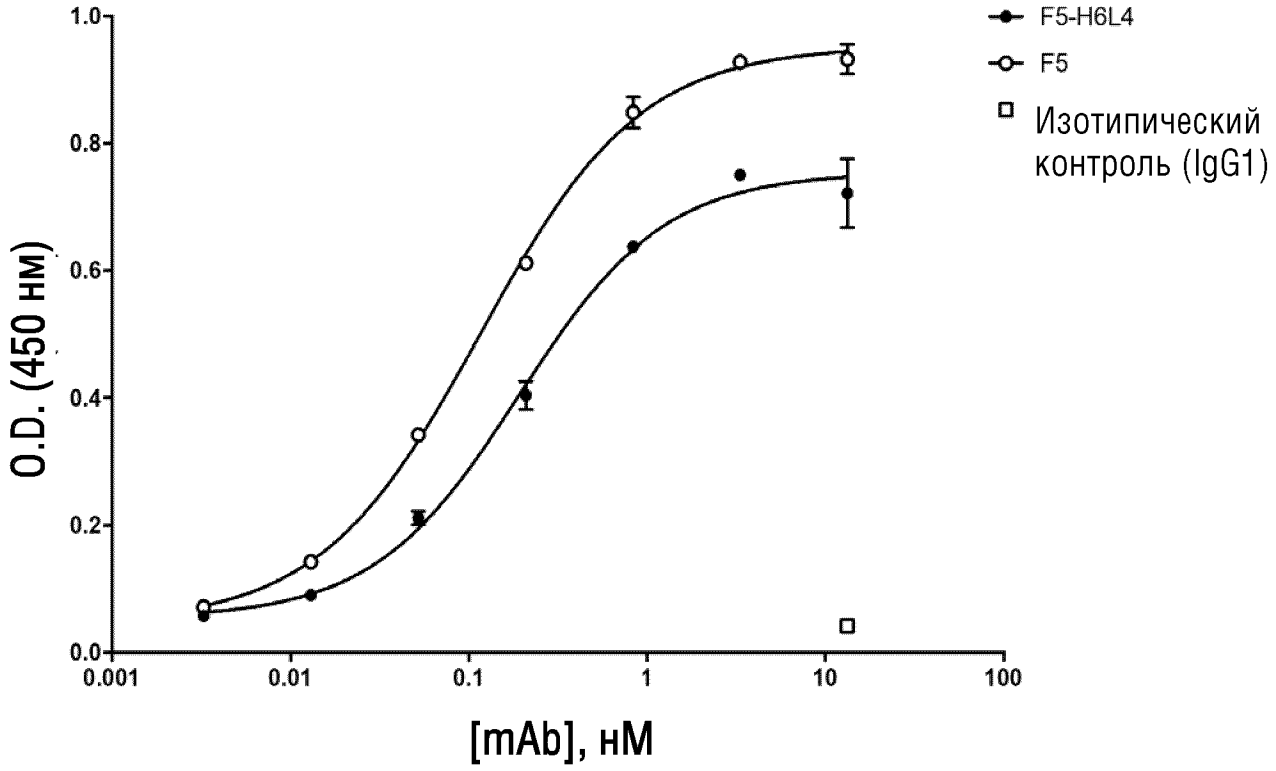
37. Способ по п.36, в котором рак выбран из рака легких, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака груди, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (HLL), хронического миелогенного лейкоза (HML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других гемобластозов.

38. Способ получения моноклонального анти-FOLR1 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 28-30, включающий культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или

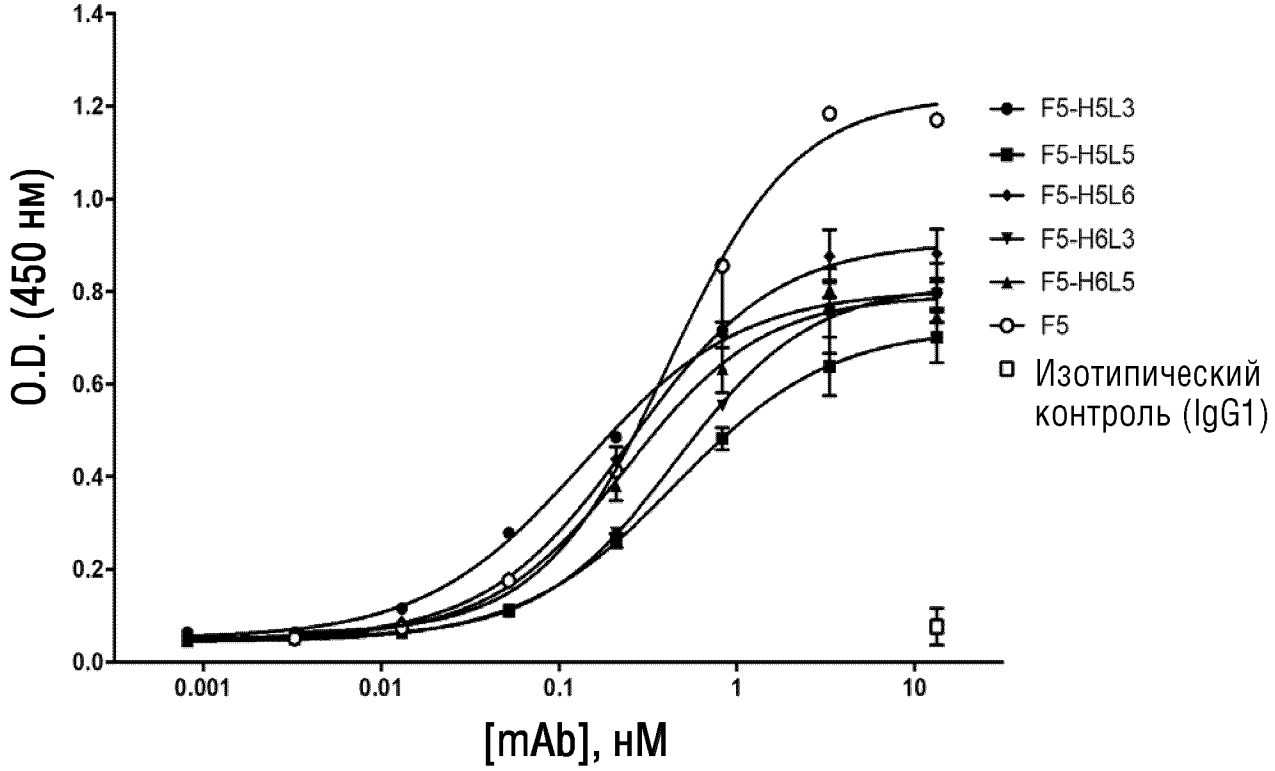
его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

39. Способ получения фармацевтической композиции по п.34, включающий объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

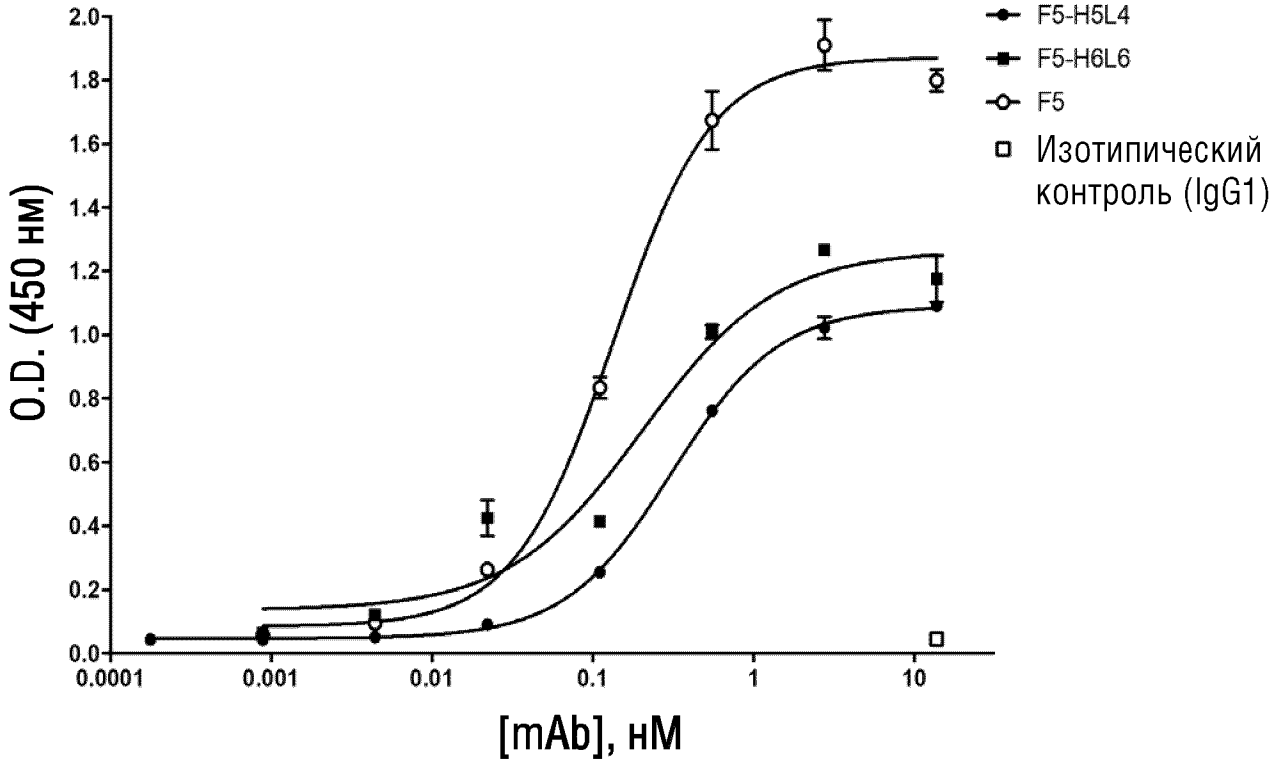
ФИГ.1А


F5-H6L4
F5
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ

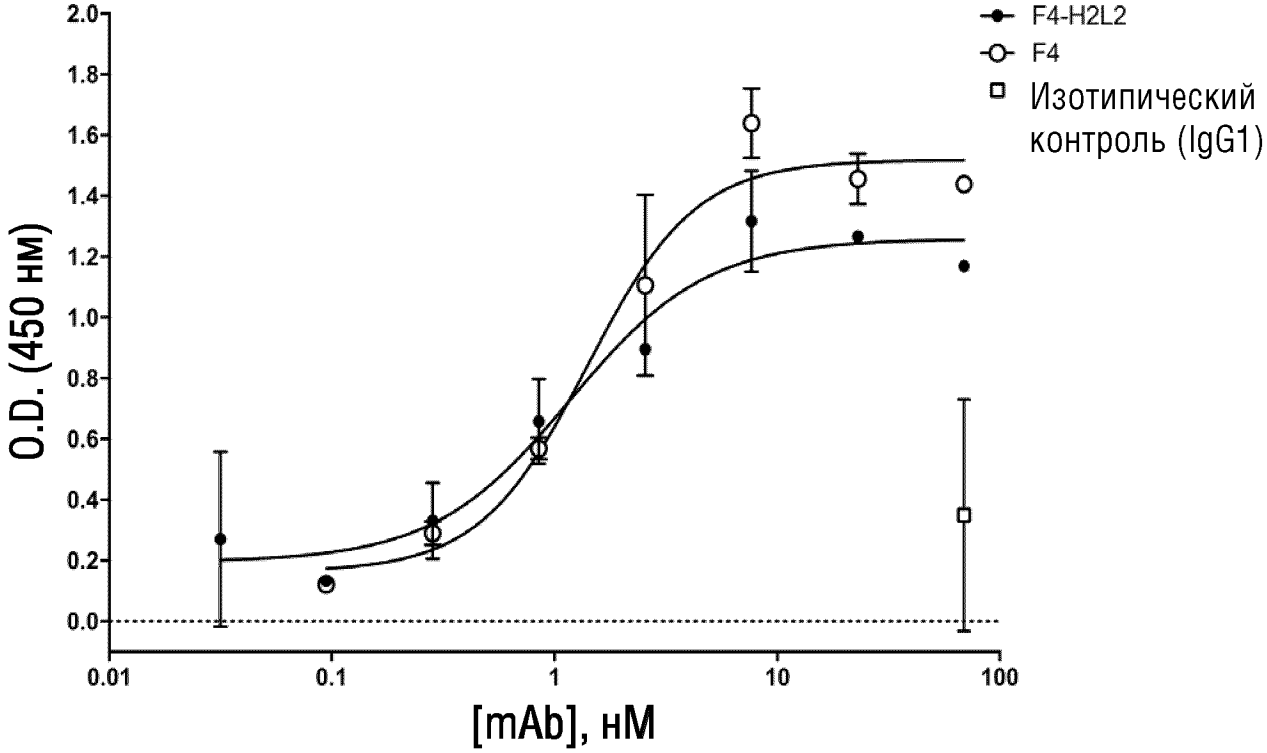
ФИГ.1В


F5-H5L3
F5-H5L5
F5-H5L6
F5-H6L3
F5-H6L5
F5
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
[mAb], нМ

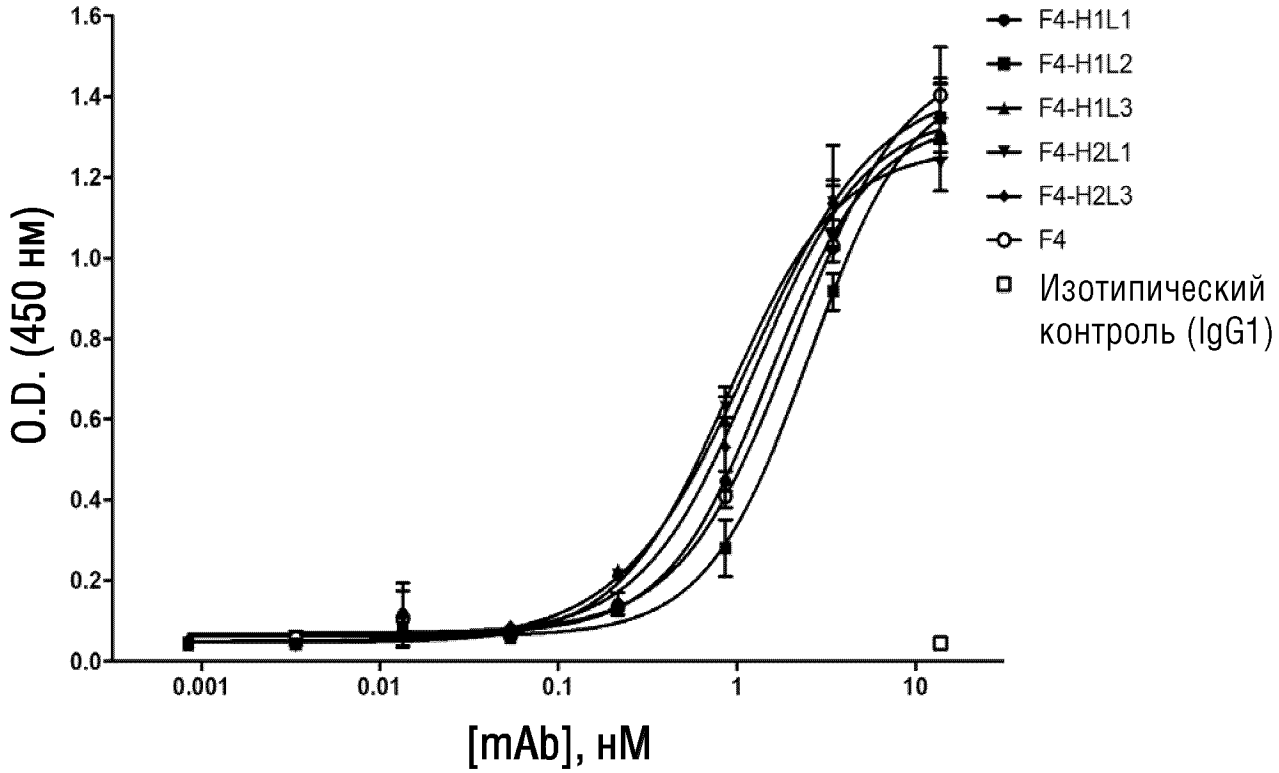
ФИГ.1C


F5-H5L4
F5-H6L6
F5
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
[mAb], нМ

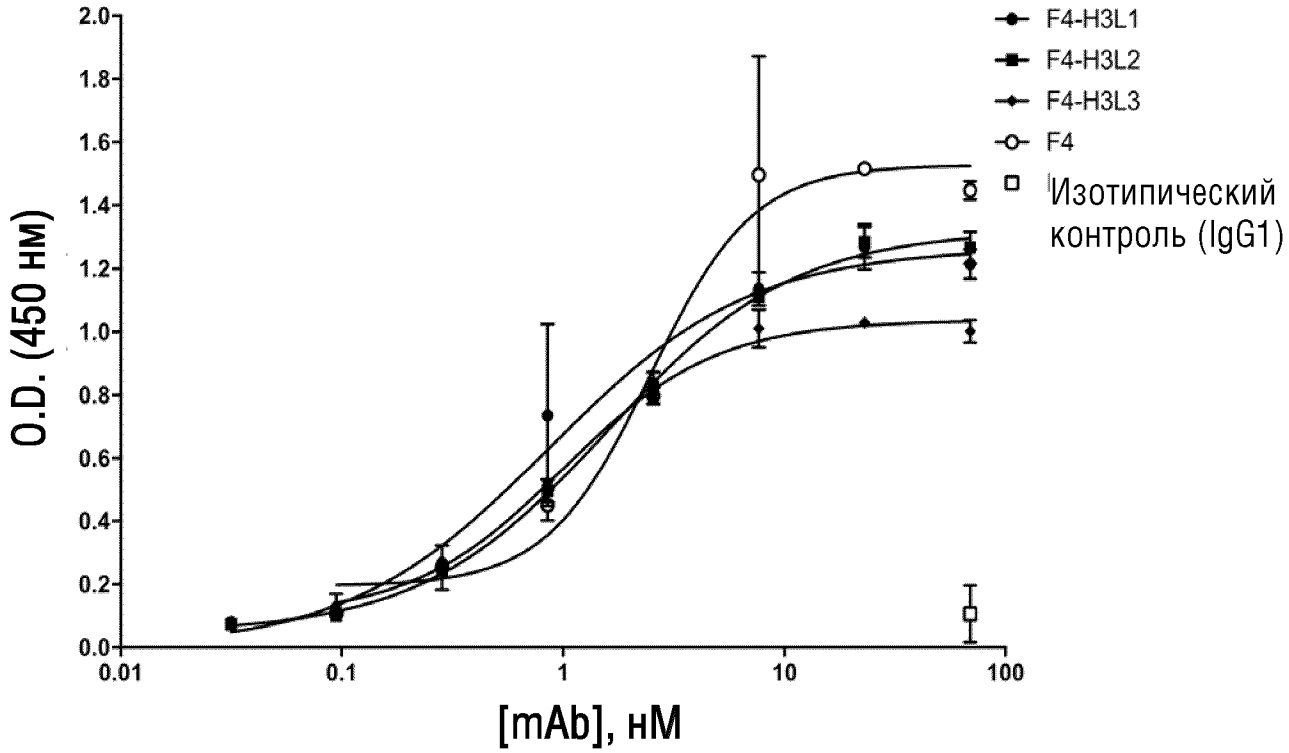
ФИГ.1D


F4-H2L2
F4
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ

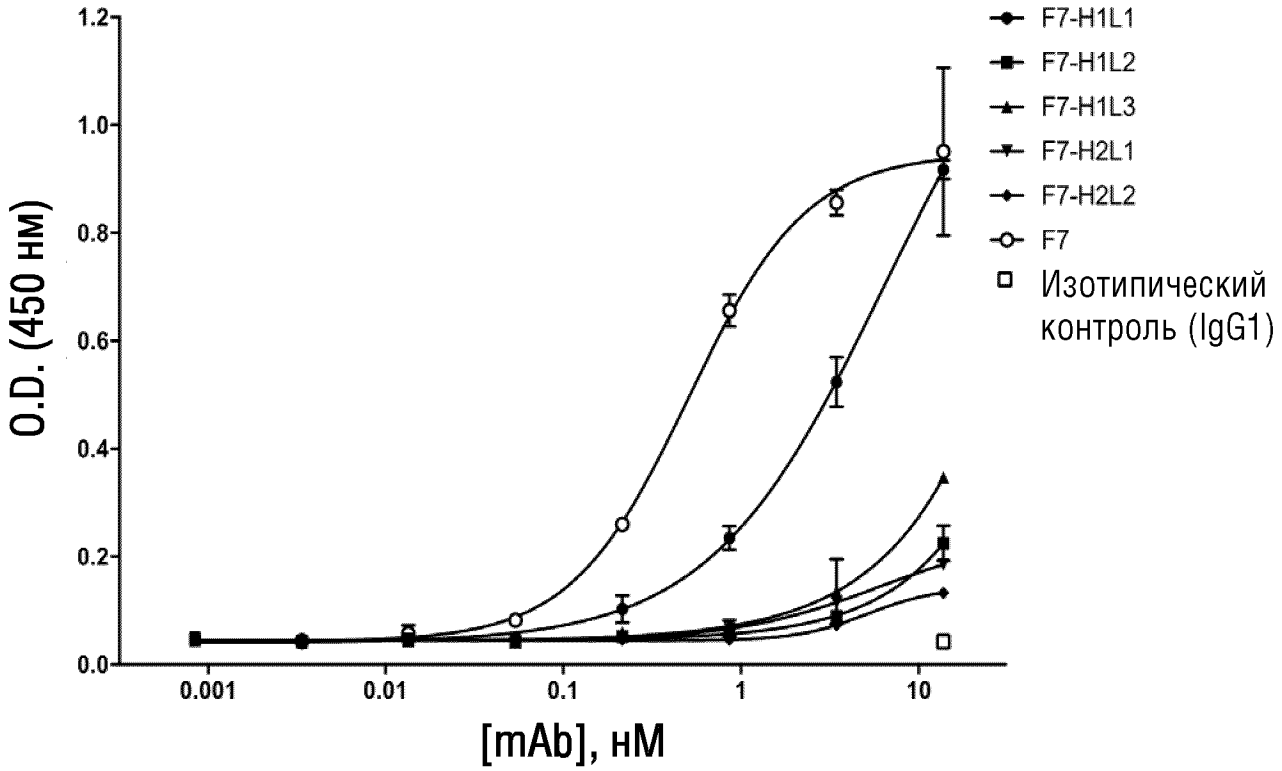
ФИГ.1E


1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.001
0.01
0.1
1
10
[mAb], нМ
F4-H1L1
F4-H1L2
F4-H1L3
F4-H2L1
F4-H2L3
F4
Изотипический контроль (IgG1)

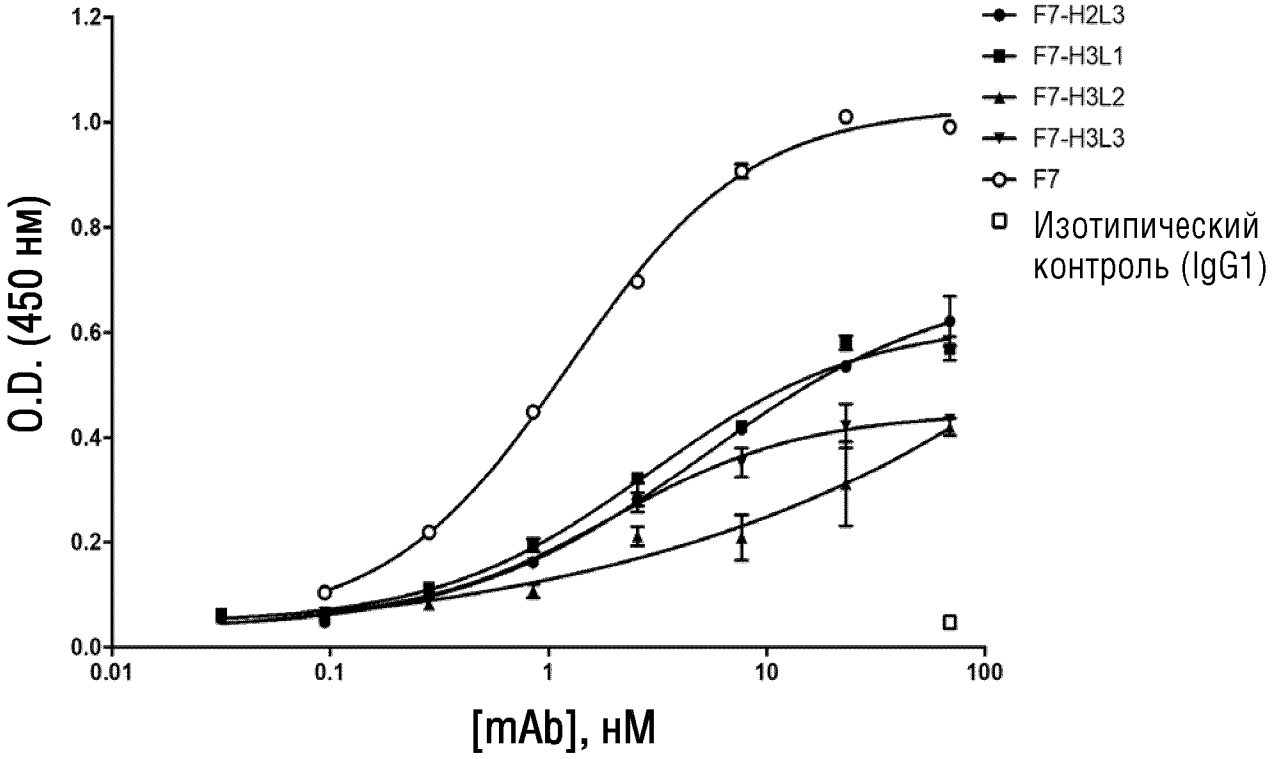
ФИГ.1F


2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ
F4-H3L1
F4-H3L2
F4-H3L3
F4
Изотипический контроль (IgG1)

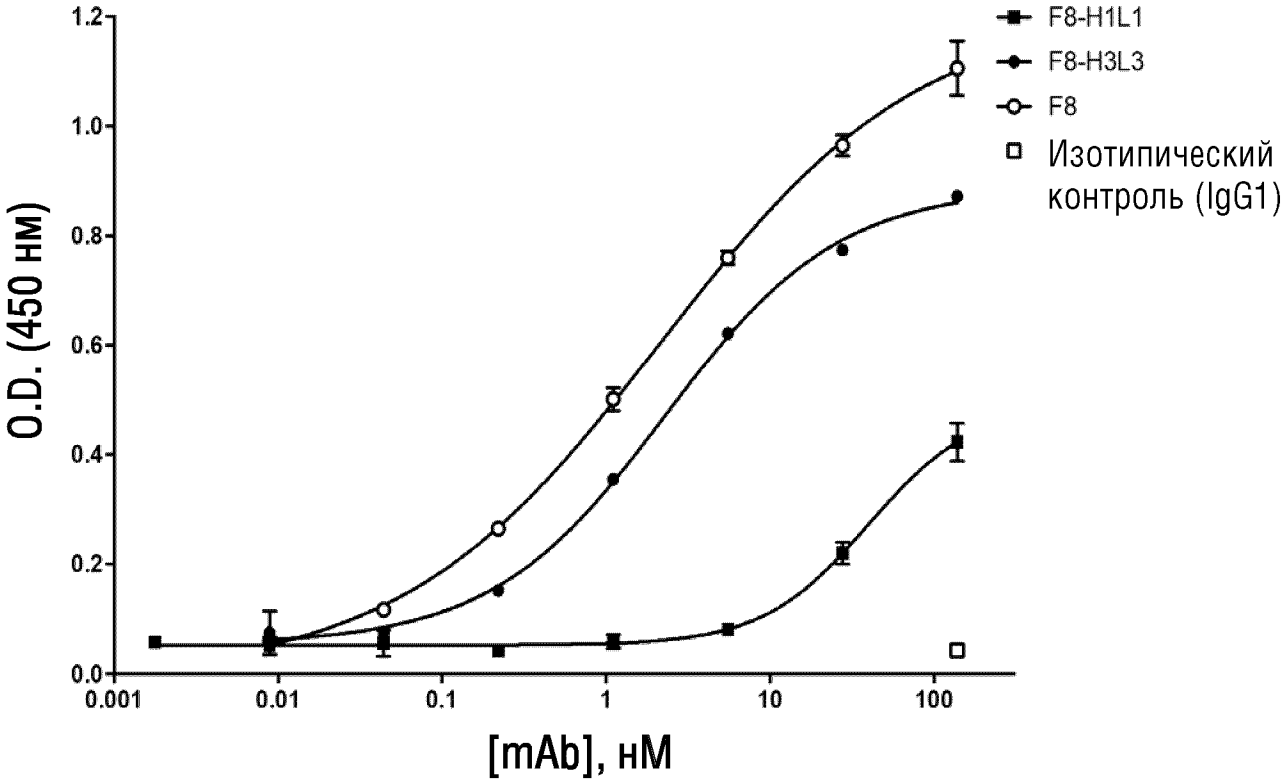
ФИГ.1G


1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.001
0.01
0.1
1
10
[mAb], нМ
F7-H1L1
F7-H1L2
F7-H1L3
F7-H2L1
F7-H2L2
F7
Изотипический контроль (IgG1)

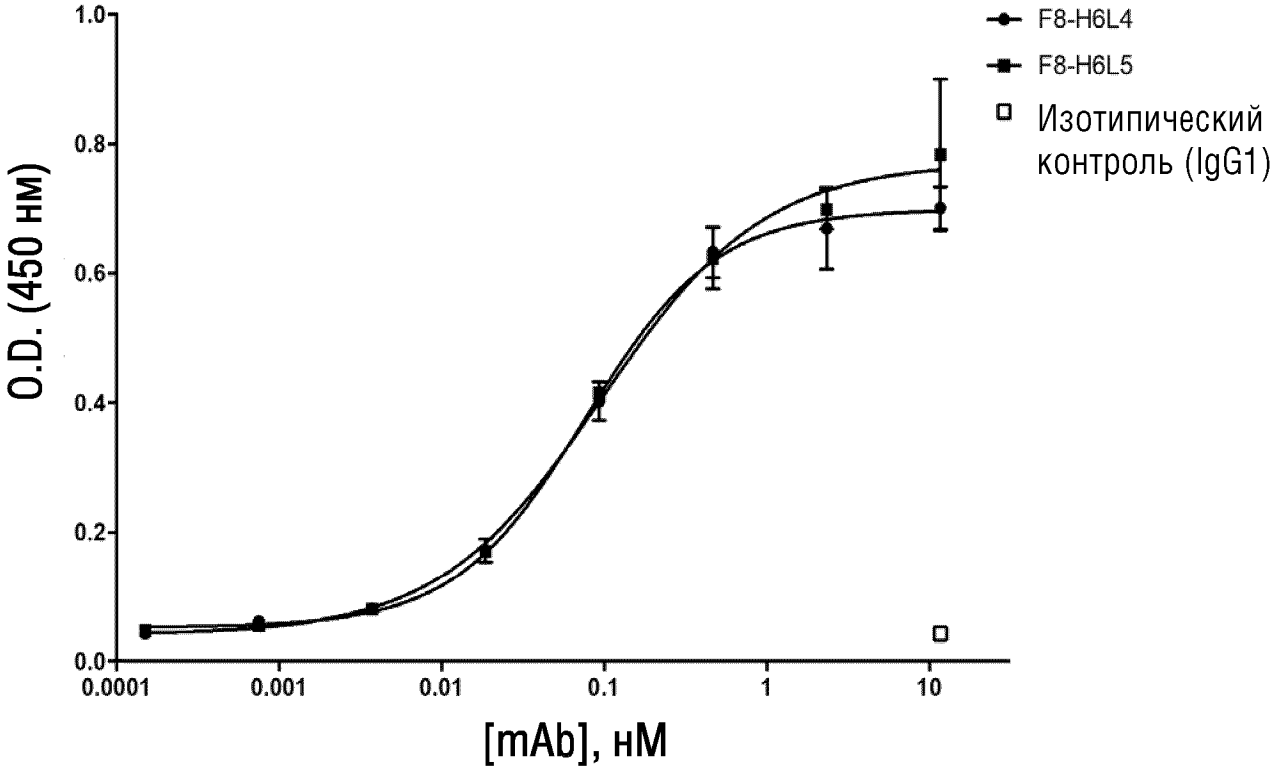
ФИГ.1H


1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ
F7-H2L3
F7-H3L1
F7-H3L2
F7-H3L3
F7
Изотипический контроль (IgG1)

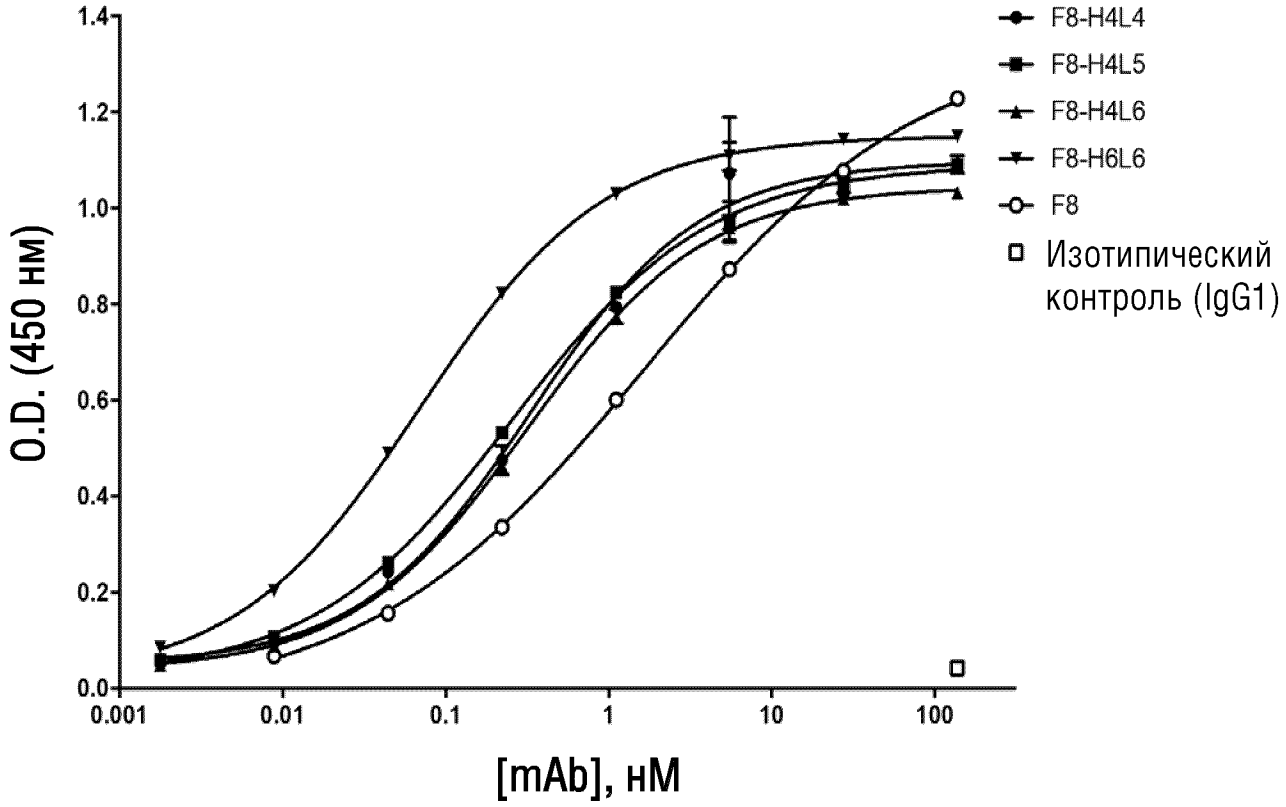
ФИГ.1I


F8-H1L1
F8-H3L3
F8
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ

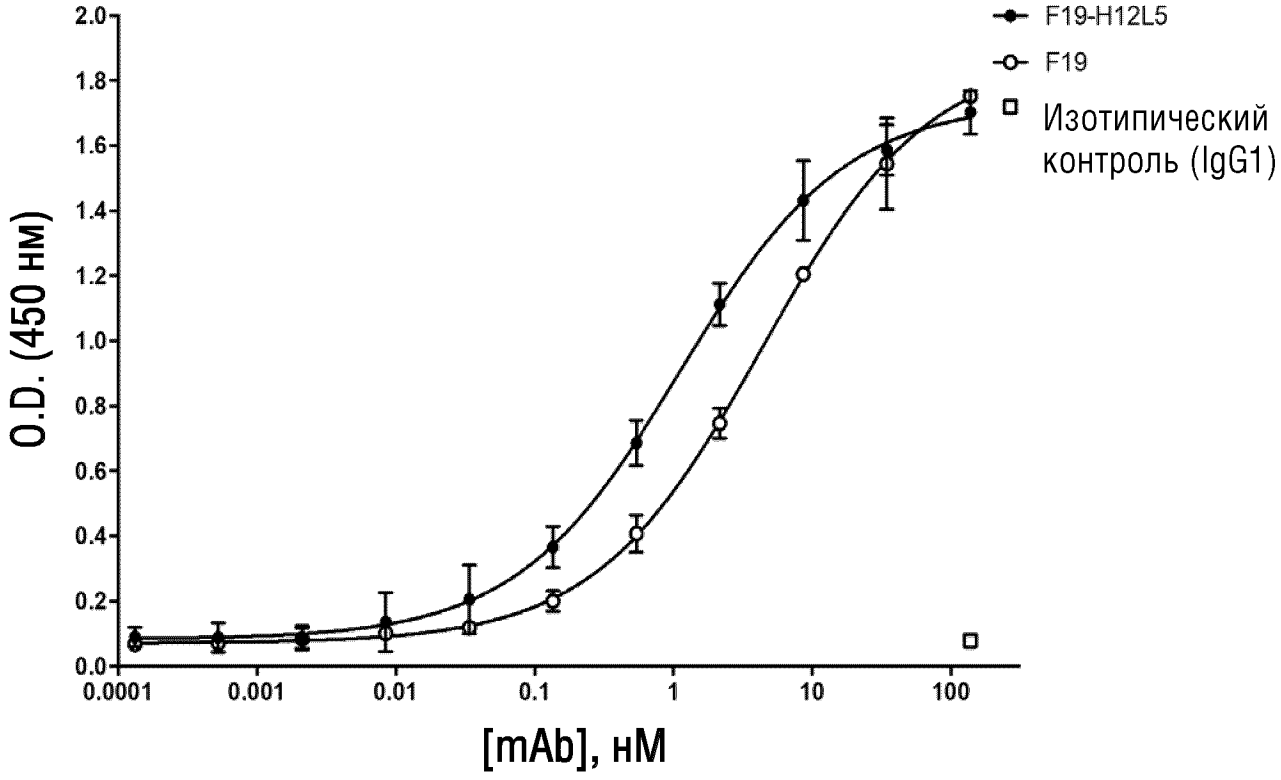
ФИГ.1J


F8-H6L4
F8-H6L5
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
[mAb], нМ

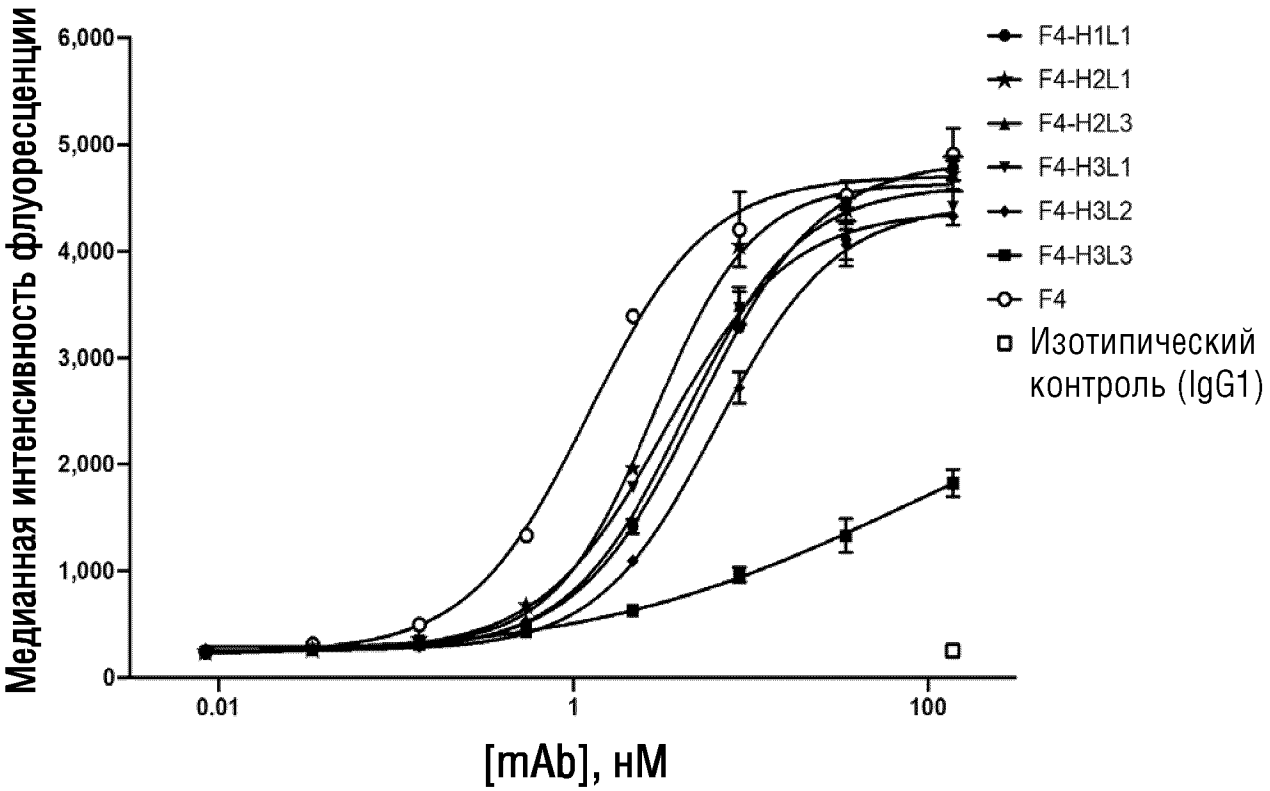
ФИГ.1K


F8-H4L4
F8-H4L5
F8-H4L6
F8-H6L6
F8
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
[mAb], нМ
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
0.001
0.01
0.1
1
10
100

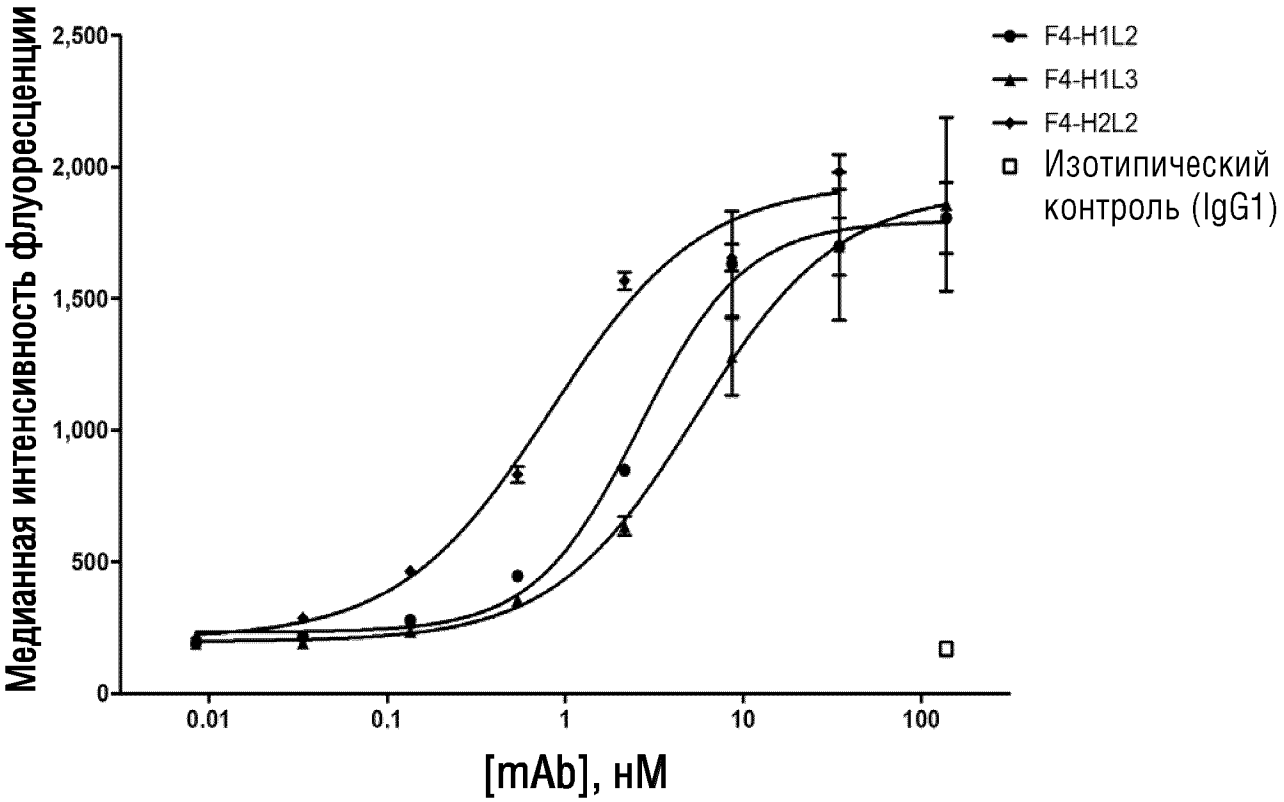
ФИГ.1L


F19-H12L5
F19
Изотипический контроль (IgG1)
O.D. (450 нм)
[mAb], нМ
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
1.6
1.8
2.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100

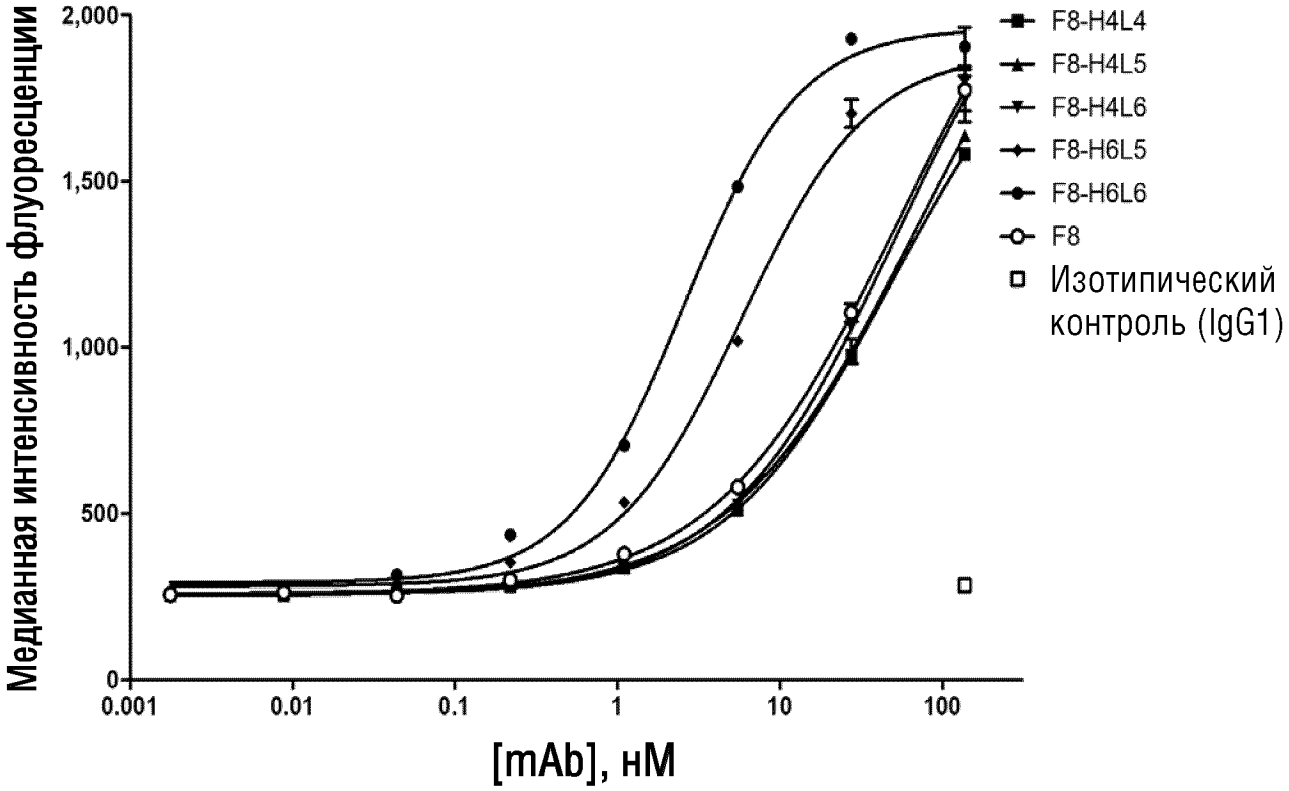
ФИГ.2А


Медианная интенсивность флуоресценции
6,000
5,000
4,000
3,000
2,000
1,000
0
0.01
1
100
[mAb], нМ
F4-H1L1
F4-H2L1
F4-H2L3
F4-H3L1
F4-H3L2
F4-H3L3
F4
Изотипический контроль (IgG1)

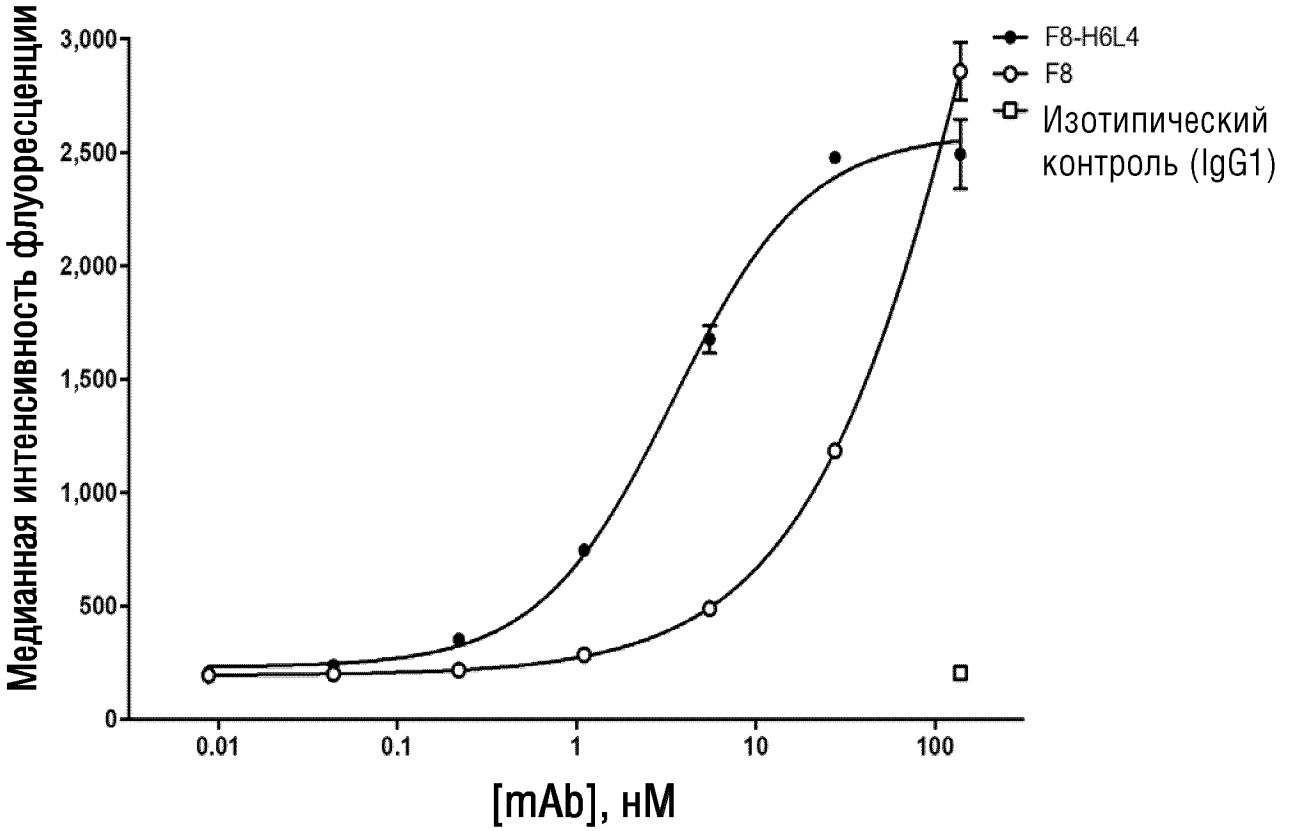
ФИГ.2В


Медианная интенсивность флуоресценции
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ
F4-H1L2
F4-H1L3
F4-H2L2
Изотипический контроль (IgG1)

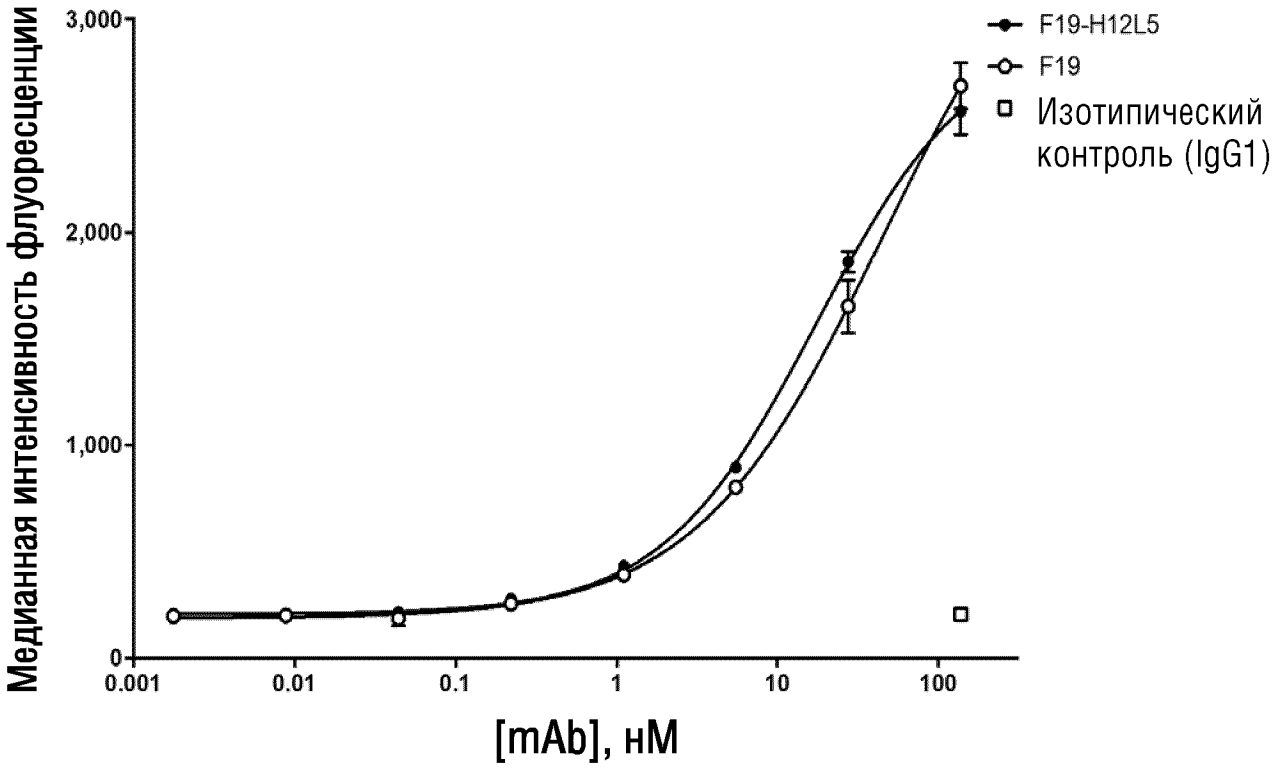
ФИГ.2C


Медианная интенсивность флуоресценции
2,000
1,500
1,000
500
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ
F8-H4L4
F8-H4L5
F8-H4L6
F8-H6L5
F8-H6L6
F8
Изотипический контроль (IgG1)

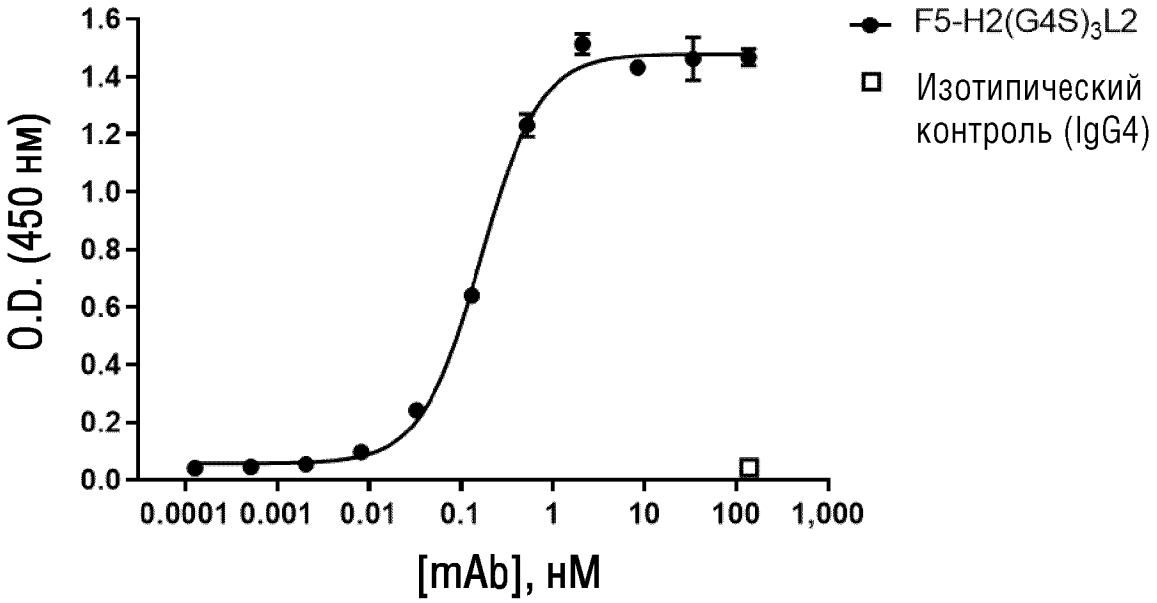
ФИГ.2D


Медианная интенсивность флуоресценции
3,000
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ
F8-H6L4
F8
Изотипический контроль (IgG1)

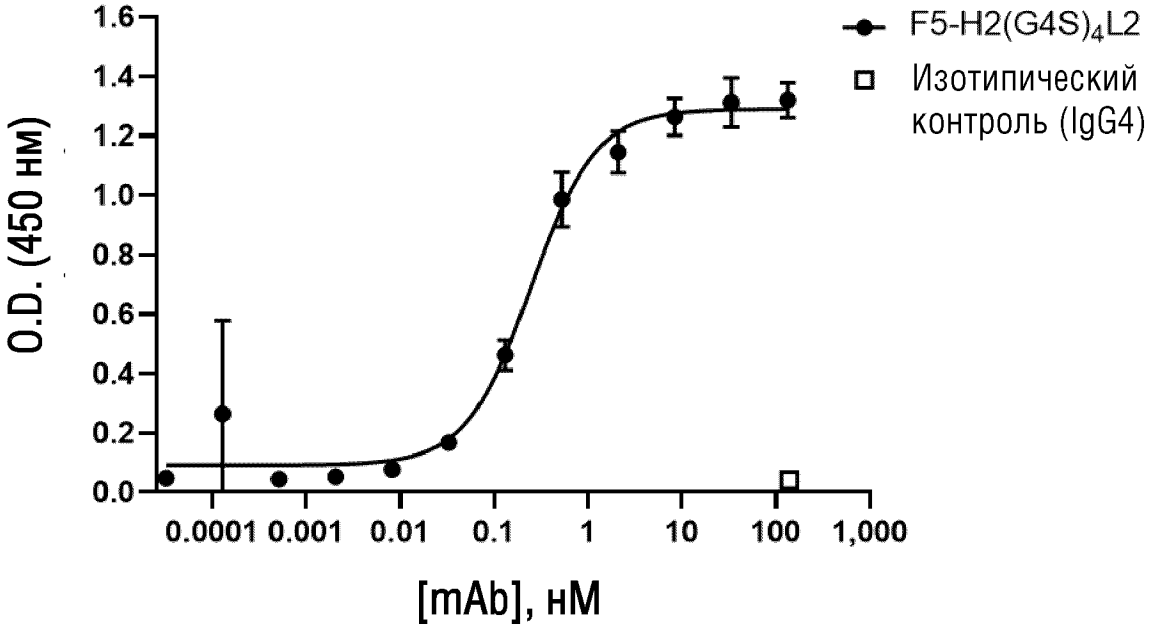
ФИГ.2E


Медианная интенсивность флуоресценции
3,000
2,000
1,000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[mAb], нМ
F19-H12L5
F19
Изотипический контроль (IgG1)

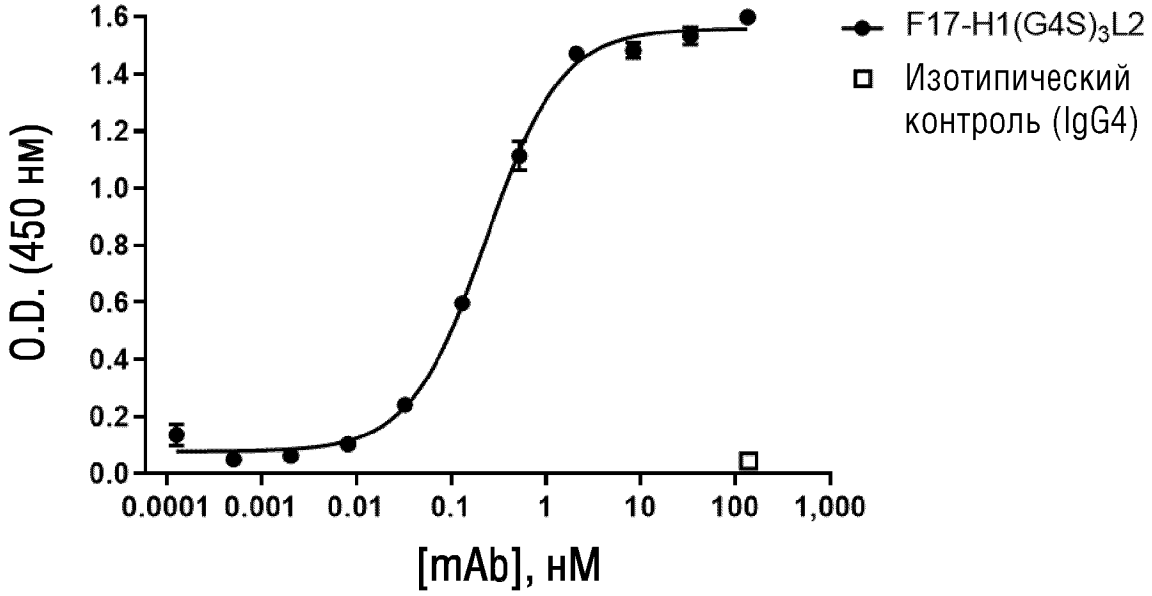
ФИГ.3A


O.D. (450 нм)
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F5-H2(G4S)3L2
Изотипический контроль (IgG4)

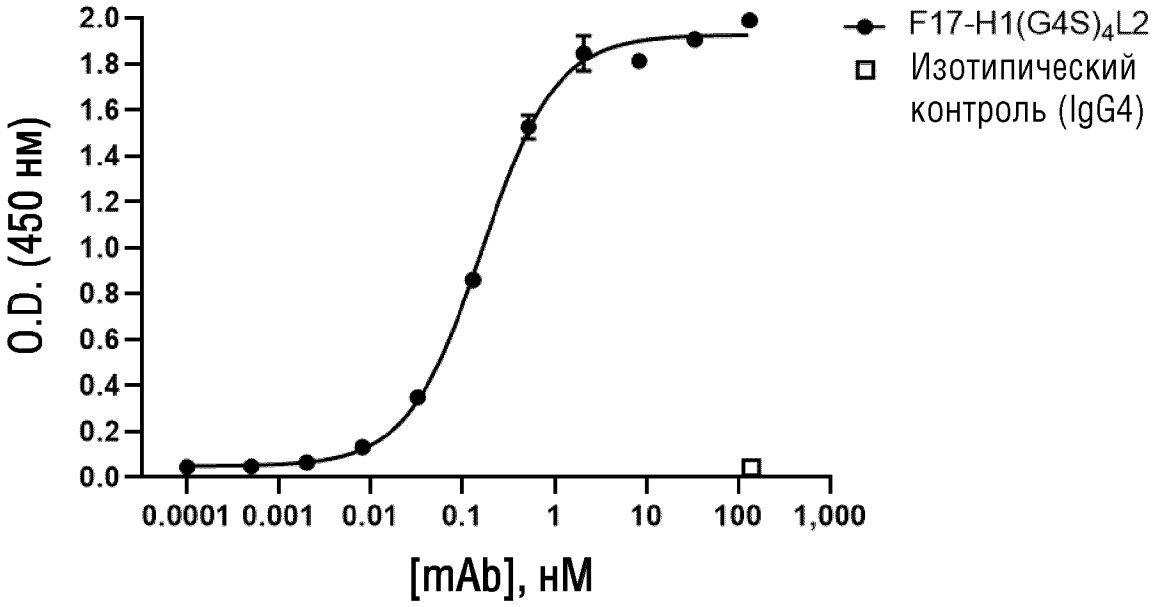
ФИГ.3B


1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F5-H2(G4S)4L2
Изотипический контроль (IgG4)

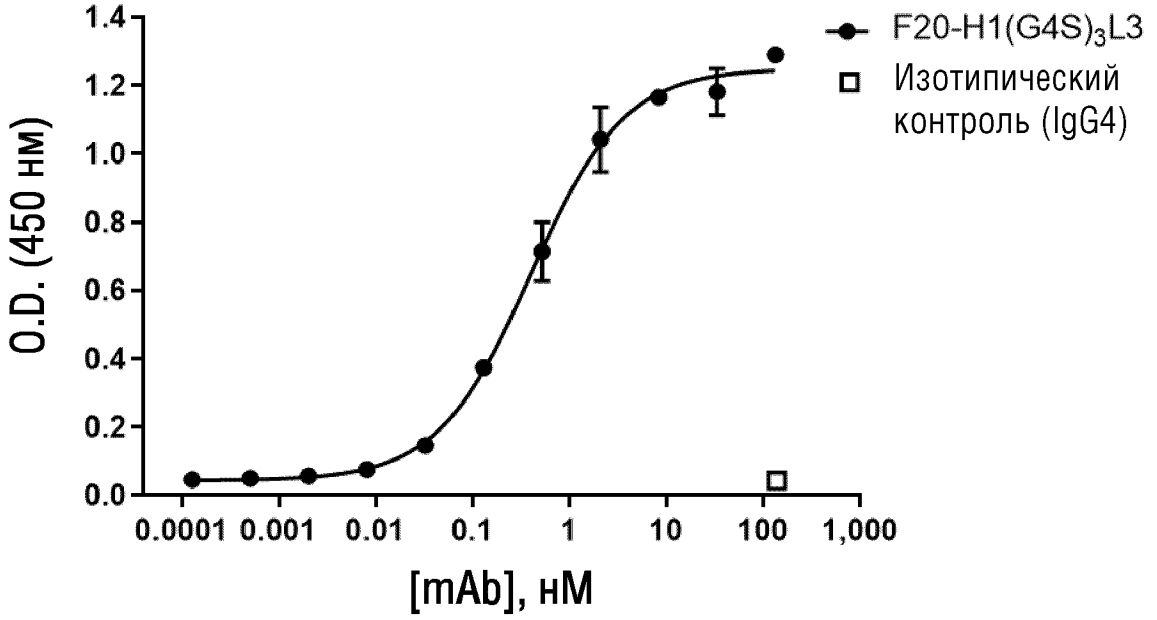
ФИГ.3C


1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F17-H1(G4S)3L2
Изотипический контроль (IgG4)

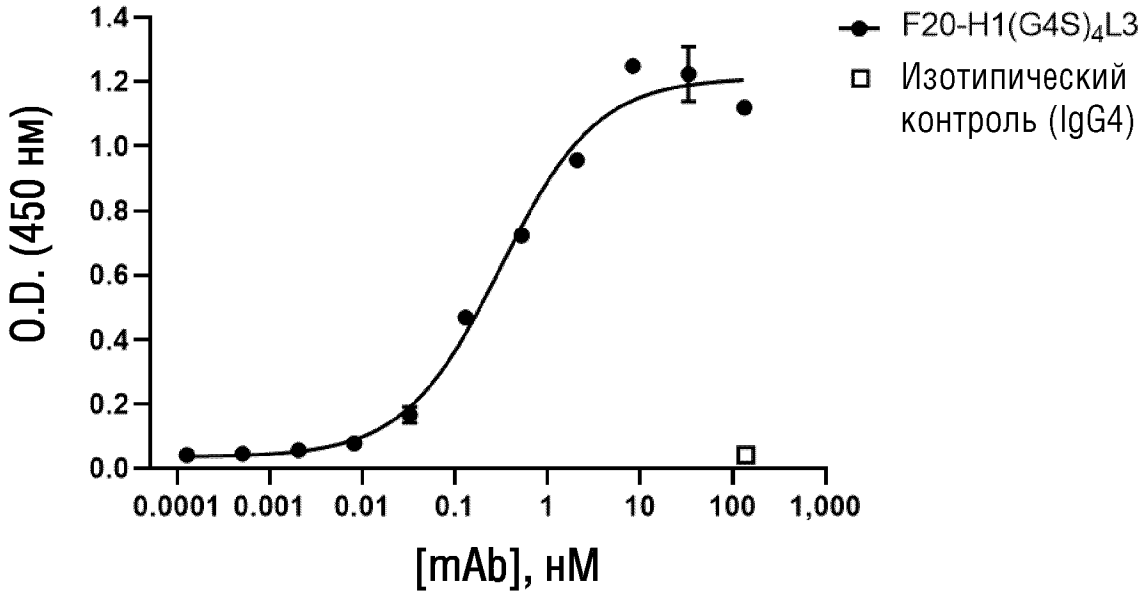
ФИГ.3D


2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F17-H1(G4S)4L2
Изотипический контроль (IgG4)

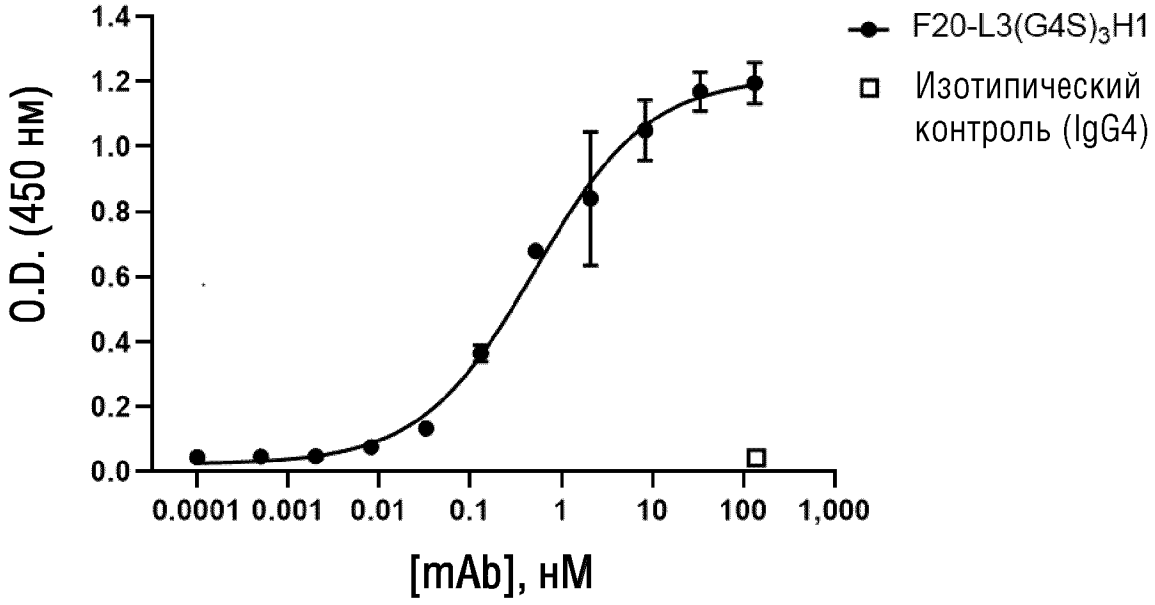
ФИГ.3E


1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F20-H1(G4S)3L3
Изотипический контроль (IgG4)

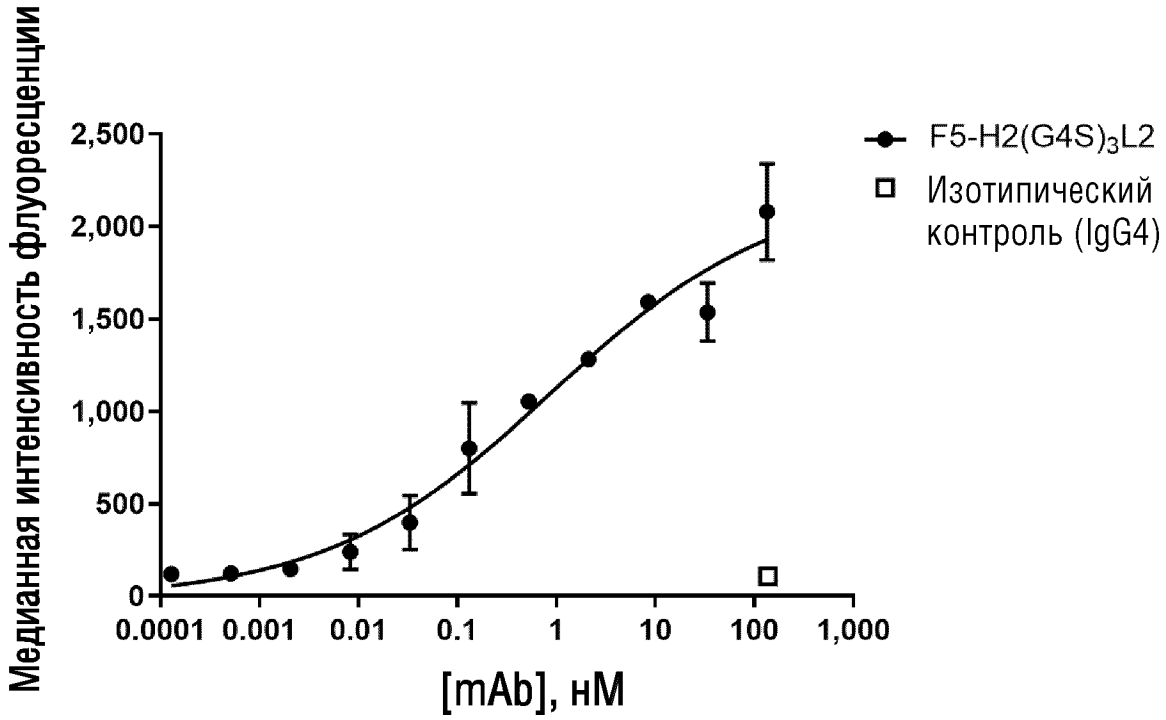
ФИГ.3F


1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F20-H1(G4S)4L3
Изотипический контроль (IgG4)

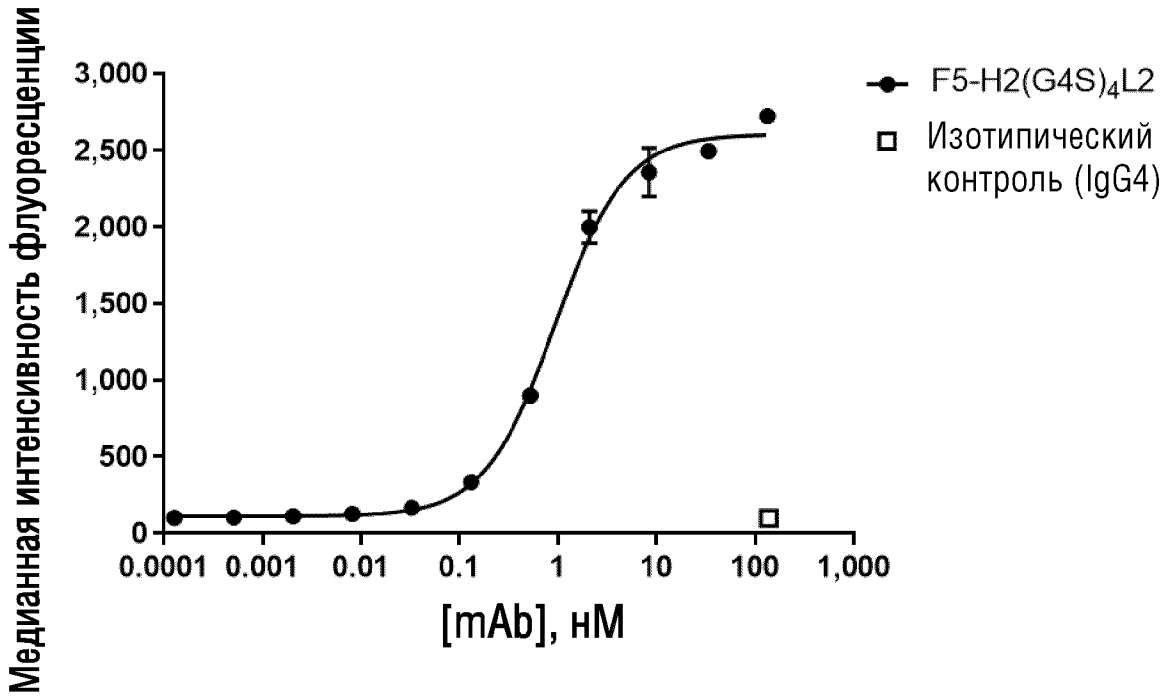
ФИГ.3G


1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
O.D. (450 нм)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F20-L3(G4S)3H1
Изотипический контроль (IgG4)

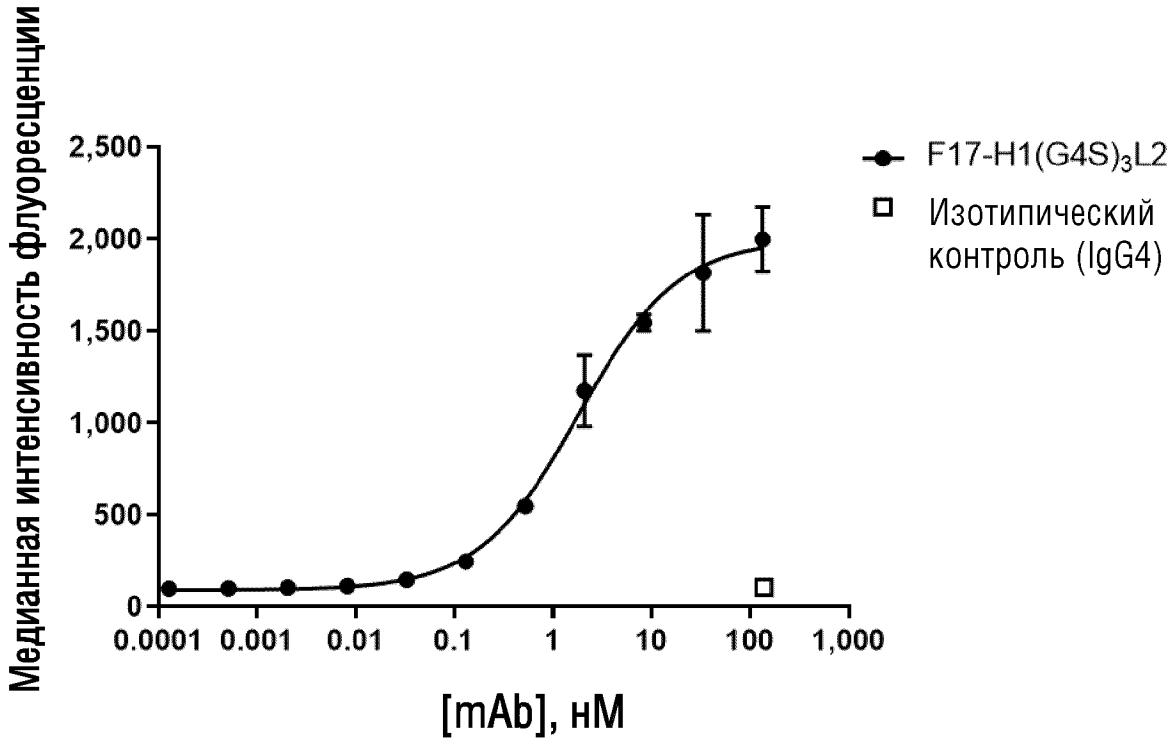
ФИГ.4А


Медианная интенсивность флуоресценции
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F5-H2(G4S)3L2
Изотипический контроль (IgG4)

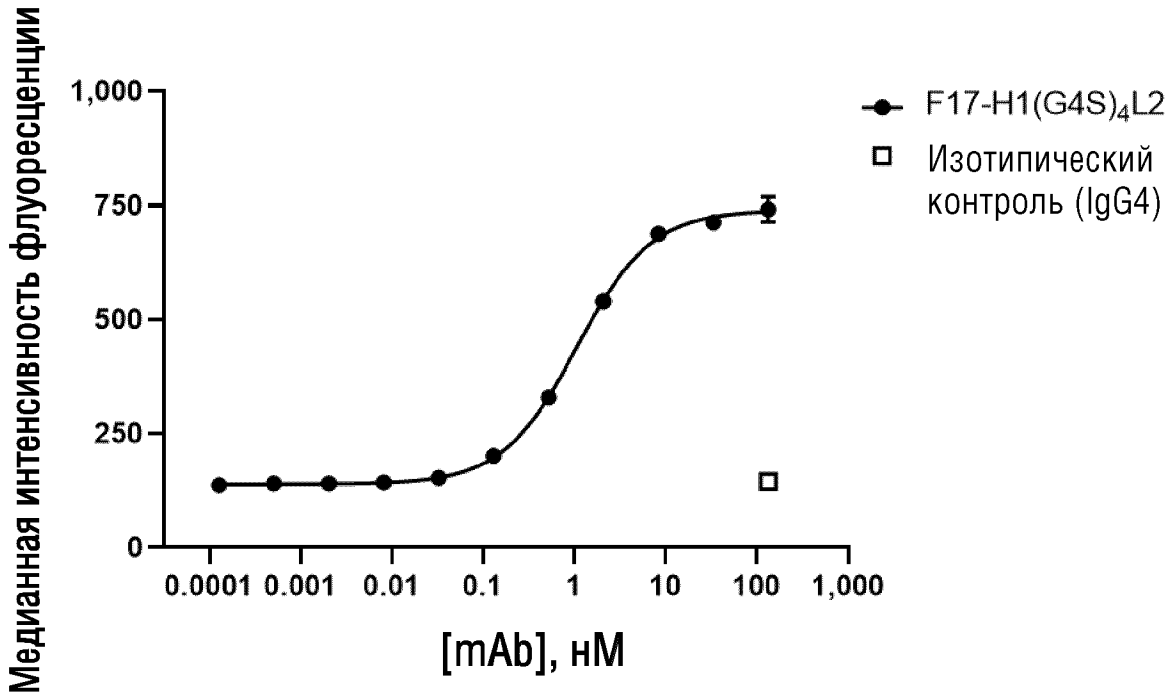
ФИГ.4В


Медианная интенсивность флуоресценции
3,000
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F5-H2(G4S)4L2
Изотипический контроль (IgG4)

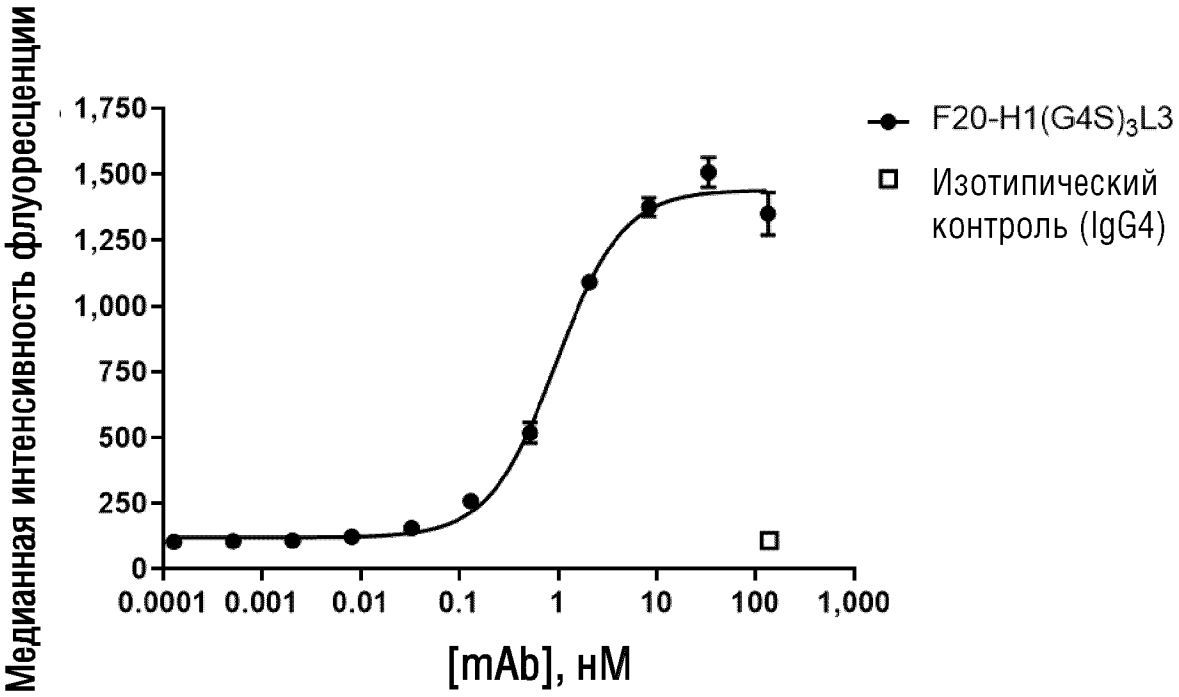
ФИГ.4C


Медианная интенсивность флуоресценции
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F17-H1(G4S)3L2
Изотипический контроль (IgG4)

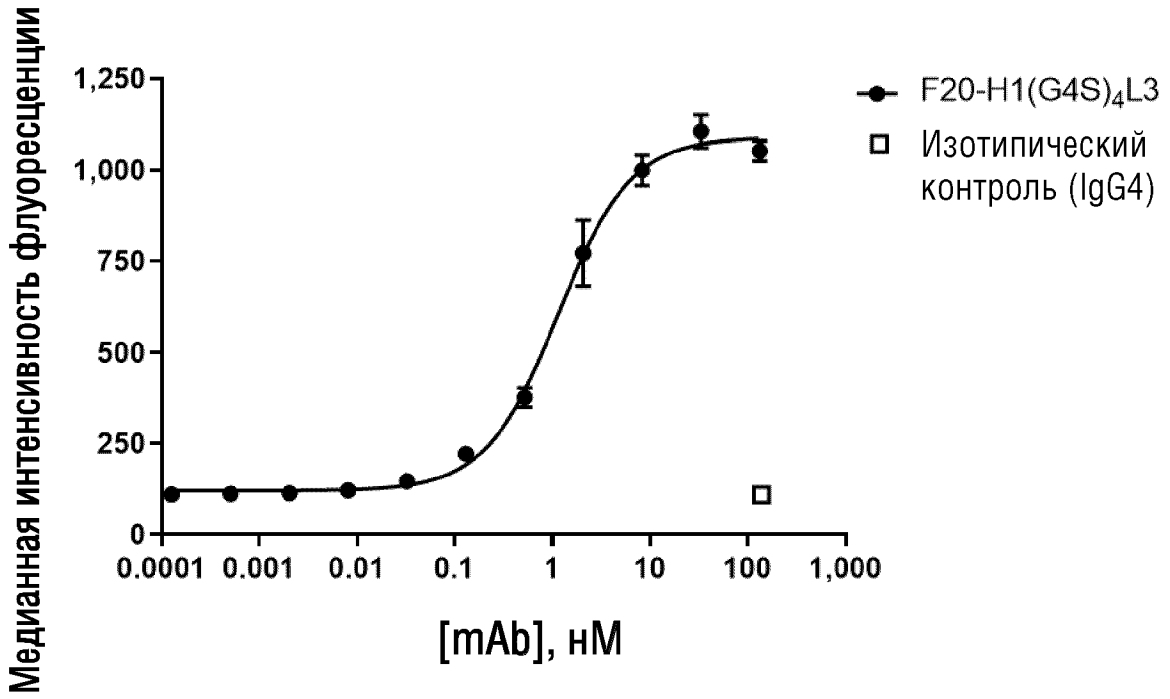
ФИГ.4D


Медианная интенсивность флуоресценции
1,000
750
500
250
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F17-H1(G4S)4L2
Изотипический контроль (IgG4)

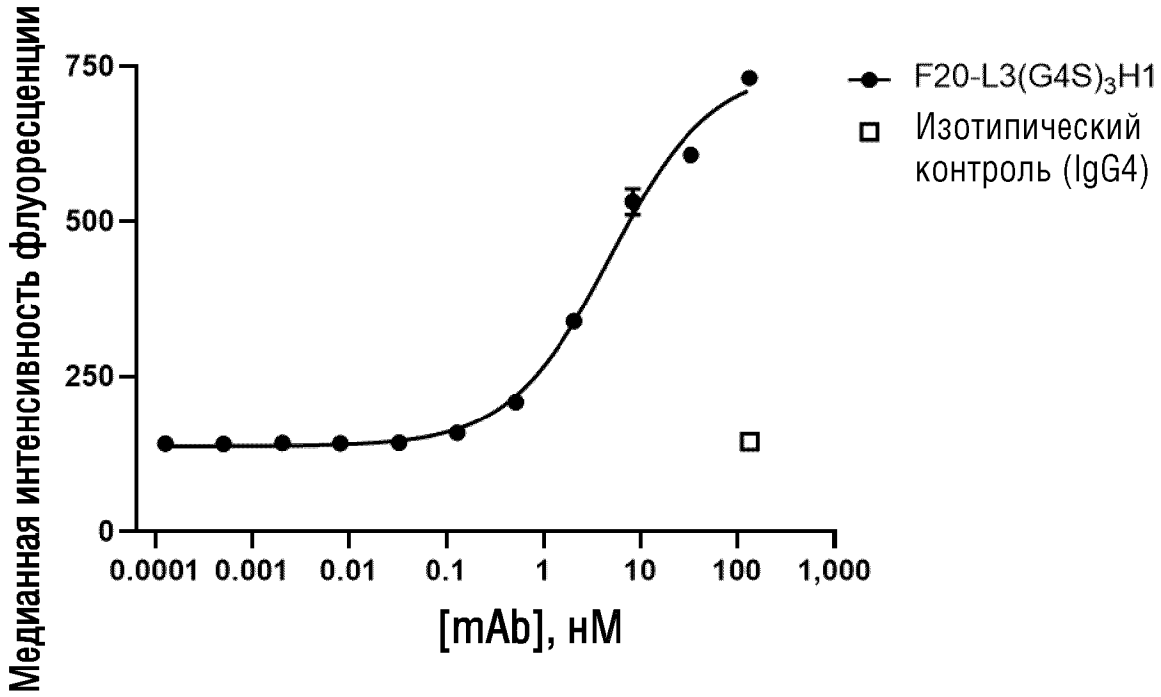
ФИГ.4E


Медианная интенсивность флуоресценции
1,750
1,500
1,250
1,000
750
500
250
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F20-H1(G4S)3L3
Изотипический контроль (IgG4)

ФИГ.4F


Медианная интенсивность флуоресценции
1,250
1,000
750
500
250
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F20-H1(G4S)4L3
Изотипический контроль (IgG4)

ФИГ.4G


Медианная интенсивность флуоресценции
750
500
250
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1,000
[mAb], нМ
F20-L3(G4S)3H1
Изотипический контроль (IgG4)