

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202291259** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2022.12.30**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.03.31**

(51) Int. Cl. *A61K 38/17* (2006.01)  
*A61K 39/00* (2006.01)  
*C12N 15/62* (2006.01)  
*C12N 15/63* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)  
*C12N 5/0783* (2006.01)  
*C07K 14/705* (2006.01)  
*C07K 14/725* (2006.01)

---

**(54) ХИМЕРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) **62/317,068**

(32) **2016.04.01**

(33) **US**

(62) **201891992; 2017.03.31**

(71) Заявитель:  
**КАЙТ ФАРМА, ИНК.; АМГЕН ИНК.  
(US)**

(72) Изобретатель:

**Вилтзиус Джед, Альварес Родригес  
Рубен, Баккер Элис, Арведсон Тара,  
Бу Лоурен (US)**

(74) Представитель:

**Нилова М.И. (RU)**

---

(57) Согласно настоящему изобретению предложены антигенсвязывающие молекулы, химерные рецепторы и сконструированные иммунные клетки. Настоящее изобретение также относится к векторам, композициям и способам лечения и/или детектирования с применением антигенсвязывающих молекул и сконструированных иммунных клеток.

---

**A1**

**202291259**

**202291259**

**A1**

## ХИМЕРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/317,068, поданной 1 апреля 2016 года, полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

### ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII, и его полное содержание включено в настоящее описание посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 31 марта 2017 года, названа K-1029\_02\_SL.txt и имеет размер 265829 байт.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Лектиноподобный белок 1 С-типа (CLL-1, также известный как CLEC-1, CLEC12A, MICL, ассоциированный с дендритными клетками лектин 1 (DCAL-1) и DCAL-2) представляет собой гликопротеиновый рецептор и является членом семейства лектиноподобных рецепторов С-типа, участвующих в регуляции клеточной пролиферации и иммунной регуляции. CLL-1 экспрессируется в гемопоэтических клетках, прежде всего на клетках, обеспечивающих врожденный иммунитет, включая моноциты, гранулоциты, дендритные клетки, а также миелоидные клетки-предшественники. Van Rhenen *et al.*, Blood 2007:110(7). CLL-1 участвует в регуляции пролиферации и дифференцировки миелоидных клеток (Bakker *et al.*, Cancer Res. 64:8443-8450 (2004); Marshall *et al.*, J. Biol. Chem. 279:14792-14802 (2004)) и присутствует на клетках острого миелоидного (миелогенного) лейкоза (ОМЛ), а также на лейкозных стволовых клетках (Zhao *et al.*, Haematologica 2010, 95(1):71-78).

[0004] Соответственно, CLL-1 участвует в развитии многих заболеваний, включающих, но не ограничивающихся перечисленными, острый миелоидный (миелогенный) лейкоз (ОМЛ), хронический миелоидный (миелогенный) лейкоз (ХМЛ), хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, атипичный хронический миелоидный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ), острый моноцитарный лейкоз, острый

монобластный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, миелодиспластический синдром (МДС), миелопролиферативное заболевание, миелоидное новообразование, миелоидную саркому, бластическое плазмоцитоидное дендритное клеточное новообразование (BPDCN) или их комбинации.

5 [0005] CLL-1 может дополнительно играть роль в воспалительных или аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит, псориаз, аллергия, астма, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), синдром раздраженного кишечника (СРК), фибромиалгия, мастоцитоз и целиакия.

[0006] Белок CLL-1 человека содержит полипептид со следующей  
10 аминокислотной последовательностью:

MSEEVTYADLQFQNSSEMEKIPEIGKFGEKAPPAPSHVWRPAALFLTLLCCLL  
LLIGLGVLASMFHVTLKIEMKKMNKLQNISEELQRNISLQLMSNMNISKIR  
NLSTTLQTIATKLCRELYSKEQENKCKPCPRRWIWHKDCYFLSDDVQTWQ  
ESKMACAAQNASLLKINNKNALEFIKSQSRSYDYWLGLSPEEDSTRGMRVD  
15 NIINSSAWVIRNAPDLNNMYCGYINRLYVQYYHCTYKKRMICEKMANPVQ  
LGSTYFREA (SEQ ID NO. 140).

[0007] Дополнительная информация о последовательности содержится в  
перечне базы данных Uniprot для CLL-1, доступном по ссылке:  
<http://www.uniprot.org/uniprot/Q5QGZ9>, а также в эталонной последовательности  
20 NP\_612210.4 в базе данных NCBI, доступной по ссылке  
([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP\\_612210.4](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_612210.4)).

[0008] При упоминании CLL-1 следует понимать, что ссылки на него включают  
его фрагменты, а также родственные полипептиды, которые включают, но не  
ограничиваются перечисленными, аллельные варианты, сплайс-варианты, варианты  
25 производных, варианты, полученные путем замен, варианты, полученные путем  
делаций, и/или варианты, полученные путем инсерций, включая добавление N-  
концевого метионина, слитые полипептиды и межвидовые гомологи. В некоторых  
вариантах реализации полипептид CLL-1 содержит концевые остатки, такие как, но не  
ограничивающиеся перечисленными, остатки лидерной последовательности, остатки,  
30 предназначенные для нацеливания, N-концевые остатки метионина, остатки лизина,  
остатки меток и/или остатки слитых белков.

**[0009]** Некоторые антитела против CLL-1 описаны в патенте США № 8,536,310 и в патенте США № 9,163,090.

**[00010]** Было показано, что сконструированные иммунные клетки обладают желаемыми качествами для терапевтических способов лечения, в частности, для применения в онкологии. Два основных типа сконструированных иммунных клеток представляют собой клетки, содержащие химерные рецепторы антигенов (называемые «CAR» или «CAR-T») и Т-клеточные рецепторы («TCR»). Эти сконструированные клетки сконструированы таким образом, чтобы обладать специфичностью к антигену с сохранением или усилением их способности распознавать и уничтожать клетку-мишень. Химерные рецепторы антигенов могут содержать, например, (i) антигенспецифичный компонент («антигенсвязывающую молекулу»), (ii) внеклеточный домен, (iii) один или более костимулирующих доменов и (iv) один или более доменов активации. Каждый домен может быть гетерогенным, то есть состоящим из последовательностей, полученных из (или соответствующих) разных белковых цепей. Экспрессирующие химерные рецепторы антигенов иммунные клетки (такие как Т-клетки) могут применяться в различных видах терапии, включая терапию рака. Следует понимать, что костимулирующие домены могут применяться для усиления активации экспрессирующих CAR клеток против антигенов-мишеней и, следовательно, для увеличения эффективности адаптивной иммунотерапии.

**[00011]** Некоторые CAR против CLL-1 были описаны, например, в заявке на патент США 20160051651 (PCT US2015/041337).

**[00012]** Т-клетки могут быть сконструированы таким образом, чтобы обладать специфичностью к одной или более желаемым мишеням. Например, Т-клетки могут быть трансдуцированы с применением ДНК или другого генетического материала, кодирующего антигенсвязывающую молекулу, такую как один или более одноцепочечных переменных фрагментов («scFv») антитела, в сочетании с одной или более сигнальными молекулами и/или одним или более доменами активации, такими как CD3 дзета.

**[00013]** В дополнение к способности экспрессирующих CAR Т-клеток распознавать и разрушать клетки-мишени, успех Т-клеточной терапии обеспечивается за счет способности экспрессирующих CAR Т-клеток сохранять и поддерживать способность к пролиферации в ответ на взаимодействие с антигеном.

[00014] Т-клеточные рецепторы (TCR) представляют собой молекулы, обнаруженные на поверхности Т-клеток, которые ответственны за распознавание фрагментов антигена, таких как пептиды, связанные с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС). TCR состоит из двух различных белковых цепей –  
5 приблизительно 95% TCR человека состоят из альфа ( $\alpha$ ) и бета ( $\beta$ ) цепи. В случае приблизительно 5% Т-клеток человека TCR состоит из гамма и дельта ( $\gamma/\delta$ ) цепей. Каждая цепь состоит из двух внеклеточных доменов: вариабельной (V) области и константного (C) участка, каждый из которых относится к суперсемейству иммуноглобулинов. Как и в других иммуноглобулинах, каждый из вариабельных  
10 доменов  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи TCR (или гамма и дельта ( $\gamma/\delta$ ) цепей) содержит три гипервариабельных участка или участка, определяющих комплементарность (CDR). Когда TCR взаимодействует с антигенным пептидом и МНС (комплексом пептид/МНС), Т-клетка активируется, что позволяет ей атаковать и разрушать клетку-мишень.

15 [00015] Однако было показано, что современные способы терапии имеют различные уровни эффективности и демонстрируют нежелательные побочные эффекты. В связи с этим существует потребность в выявлении новых и улучшенных способов терапии для лечения заболеваний и расстройств, связанных с CLL-1.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

20 [00016] Настоящее изобретение относится к сконструированным иммунным клеткам (таким как CAR или TCR), к антигенсвязывающим молекулам (включающим, но не ограничивающимся перечисленными, антитела, scFv, тяжелые и/или легкие цепи и CDR этих антигенсвязывающих молекул), имеющим специфичность к CLL-1.

[00017] Настоящее изобретение также относится к новой последовательности  
25 внеклеточного (шарнирного) участка CD28, подходящего в качестве костимулирующих доменов в этих клетках.

[00018] Химерные рецепторы антигенов согласно настоящему изобретению, как правило, содержат: (i) специфичную антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, (ii) внеклеточный домен (который может содержать шарнирный домен), (iii) один или  
30 более костимулирующих доменов и (iv) один или более доменов активации. Следует понимать, что каждый домен может быть гетерогенным, то есть состоящим из

последовательностей, полученных из (или соответствующих) различных белковых цепей.

**[00019]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к химерному рецептору антигена, содержащему антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом указанная антигенсвязывающая молекула содержит по меньшей мере один из: а) CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17, 51, 73 и 95, б) CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18, 52, 74 и 96, в) CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 53, 75 и 97, г) CDR1 вариабельной области легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22, 56, 78 и 100, е) CDR2 вариабельной области легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO. 23, 57, 79 и 101, и ф) CDR3 вариабельной области легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO. 24, 58, 80 и 102. Химерный рецептор антигена может дополнительно содержать по меньшей мере один костимулирующий домен. Также изобретение относится к химерному рецептору антигена по п. 1, дополнительно содержащему по меньшей мере один домен активации.

**[00020]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к химерным рецепторам антигенов, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%%, по меньшей мере приблизительно 95%%, по меньшей мере приблизительно 96%%, по меньшей мере приблизительно 97%%, по меньшей мере приблизительно 98%%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны химерным рецепторам антигенов, представленным в настоящем описании.

**[00021]** Настоящее изобретение также относится к химерным рецепторам антигенов, содержащим не более 8 аминокислотных замен.

**[00022]** В некоторых вариантах реализации костимулирующий домен содержит сигнальный домен (или другой подходящий участок) CD28, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, белка 1 программируемой смерти (PD-1), индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS), ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1, CD11a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы МНС класса I, белков-рецепторов ФНО, белка иммуноглобулина, рецептора цитокина, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов НК-клеток, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, специфично связывающегося с CD83, или любую их комбинацию.

**[00023]** В некоторых вариантах реализации костимулирующий домен может содержать полностью или частично нуклеотидную последовательность 4-1BB, представляющую собой SEQ ID NO. 141, и соответствующую аминокислотную последовательность, представляющую собой SEQ ID NO. 142. В других вариантах реализации костимулирующий домен может содержать полностью или частично аминокислотную последовательность OX40, представляющую собой SEQ ID NO. 143. См. также Hombach *et al.*, *Oncoimmunology*. 2012 Jul. 1; 1(4): 458-466. В других вариантах реализации костимулирующий домен может содержать целую молекулу ICOS или ее участок, как описано в Guedan *et al.*, August 14, 2014; *Blood*: 124 (7) и Shen *et al.*, *Journal of Hematology & Oncology* (2013) 6:33. В других вариантах реализации костимулирующий домен может содержать целую молекулу или участок CD27, как описано в Song *et al.*, *Oncoimmunology*. 2012 Jul. 1;1(4): 547-549.

**[00024]** Предпочтительные варианты реализации включают введение в CAR согласно настоящему изобретению одной или более из следующих

последовательностей: SEQ ID NO. 2, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 6 и SEQ ID NO. 8. Дополнительные предпочтительные варианты реализации включают введение в CAR согласно настоящему изобретению последовательности, представляющей собой SEQ ID NO. 14.

5 **[00025]** В других вариантах реализации домен активации содержит CD3, предпочтительно CD3 дзета, более предпочтительно CD3 дзета, содержащий последовательность, представляющую собой SEQ ID NO. 10.

**[00026]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к химерному рецептору антигена, содержащему антигенсвязывающую молекулу,  
10 дополнительно содержащую SEQ ID NO. 2 и дополнительно содержащую SEQ ID NO. 10.

**[00027]** Настоящее изобретение также относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерные рецепторы антигенов, и к векторам, содержащим указанные полинуклеотиды. Любой вектор, известный в данной области  
15 техники, может подходить для настоящего изобретения. В некоторых вариантах реализации вектор представляет собой вирусный вектор. В некоторых вариантах реализации вектор представляет собой ретровирусный вектор (такой как рMSVG1), ДНК-вектор, вектор на основе вируса лейкоза мышей, SFG-вектор, плазмиду, РНК-вектор, аденовирусный вектор, бакуловирусный вектор, вектор на основе вируса  
20 Эпштейна-Барр, паповавирусный вектор, вектор на основе вируса осповакцины, вектор на основе вируса простого герпеса, аденоассоциированный вирусный вектор (AAV), лентивирусный вектор (такой как рGAR) или любую их комбинацию. Последовательность рGAR является следующей:

**[00028]** CTGACGCGCCCTGTAGCGGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGG  
25 TTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTT  
CGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCCGCCGGCTTTCCCGTCAAGCTC  
TAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGA  
CCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGA  
TAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACT  
30 CTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCSTATCTCGGTCTATTCTTTTGATT  
TATAAGGGATTTTGCCGATTTCCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTA  
ACAAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAAATATTAACGCTTACAATTTGCCAT



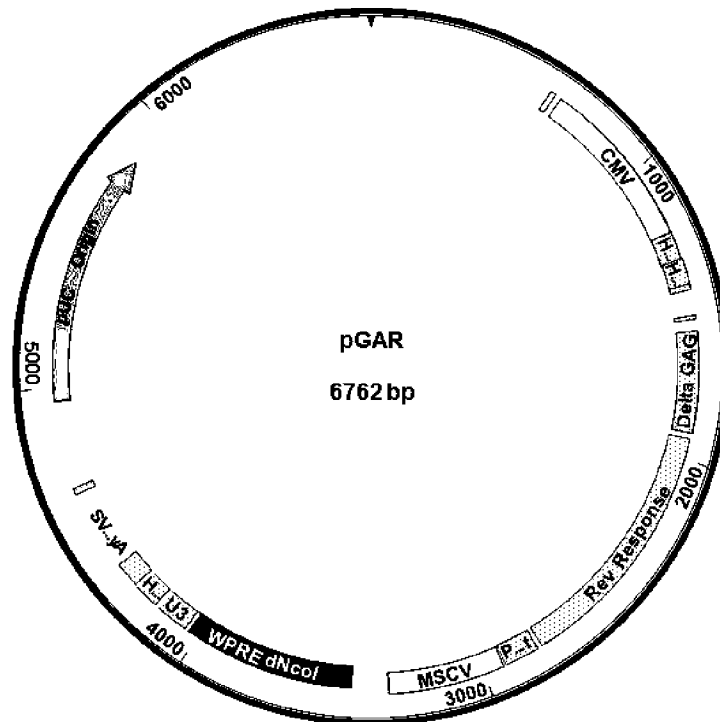
TCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCCTCTT  
CGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTT  
GGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTCACGACGTTGTAAAACGACGGCCAGTG  
AATTGTAATACGACTCACTATAGGGCGACCCGGGGATGGCGCGCCAGTAAT  
5 CAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATA  
ACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCATTG  
ACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATT  
GACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCA  
AGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGG  
10 CCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGC  
AGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCTGATGCGGTTTTGGCA  
GTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCOAAGTCTC  
CACCCATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAATCAACGGGACT  
TTCCAAAATGTCGTAACAACCTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGC  
15 GTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTGGTTTAGTGAACCGGGGTC  
TCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAAC  
CCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTG  
CCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTC  
AGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAA  
20 GGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGC  
ACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTACT  
AGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCG  
GGGAGAAATTAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGAA  
AGAAAAATATAAATTAACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAA  
25 CGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAA  
ATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGA  
TCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGA  
TAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAACAAA  
AGTAAGACCACCGCACAGCAAGCCGCGCTGATCTTCAGACCTGGAGGAGG  
30 AGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAA  
AATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCA  
GAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCTTGGGTTCTTGGG  
AGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGC

CAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCT  
ATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAG  
CTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTC  
CTGGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTT  
5 GGAATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGA  
CCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACACAAGCTTAATACACT  
CCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAAGAATTAT  
TGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAAACATAACAAATTG  
GCTGTGGTATATAAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTA  
10 AGAATAGTTTTTGGCTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATT  
CACCATTATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCC  
CGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTC  
GATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTAACTTTTAAAAGAAAAGGGG  
GGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACA  
15 GACATACAAACTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAATTCAAAATTTTA  
TCGCGATCGCGGAATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTA  
AGTAACGCCATTTTGAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAG  
TTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGG  
ATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGT  
20 CCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTC  
CAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCA  
ATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAA  
AAGAGCCACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCTTTCGAAGTAGATCTTTG  
TCGATCCTACCATCCACTCGACACACCCGCCAGCGGCCGCTGCCAAGCTTCC  
25 GAGCTCTCGAATTAATTCACGGTACCCACCATGGCCTAGGGAGACTAGTCG  
AATCGATATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTC  
TTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTG  
TATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCC  
TGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCG  
30 TGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCACTGGTTGGGGCATTGCCAC  
CACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGG  
CGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTT  
GGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAGCTGACGTCTTTTCATGG

CTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGT  
CCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCT  
CTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCT  
TTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGTTAATTAAGTACCTTTAAGACCAATGACTT  
5 ACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGG  
AAGGGCGAATCACTCCCAACGAAGACAAGATCTGCTTTTTGCTTGTACTGG  
GTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGG  
AACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGT  
GTGCCCCTGCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTA  
10 GTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGGCATGCCAGACATGATAAGATAACATTG  
ATGAGTTTGGACAAACCACAACACTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTT  
GTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAA  
ACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCAGGTTCAGGGGGAG  
GTGTGGGAGGTTTTTTGGCGCGCCATCGTCGAGGTTCCCTTTAGTGAGGGTT  
15 AATTGCGAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCCTGTGTGAAATTGT  
TATCCGCTCACAATTCCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTA  
GCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCAC  
TGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAATGAATCGG  
CCAACGCGCGGGGAGAGGGCGGTTTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCG  
20 CTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTC  
ACTCAAAGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAA  
AGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCC  
GCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAA  
ATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATAACC  
25 AGGCGTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCC  
GCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTC  
ATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGTAGGTCGTTCCGCTCCAAGCT  
GGGCTGTGTGCACGAACCCCCGTTCCAGCCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGT  
AACTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAG  
30 CAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAG  
AGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGG  
TATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCT  
TGATCCGGCAAACAACACCAGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGCAAGC

AGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTT  
CTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAACTCACGTAAAGGGATTTTGG  
TCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTA AAAATG  
AAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGACAGTTAC  
5 CAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATC  
CATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATAACGGGAGGGCTTA  
CCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTC  
CAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTG  
GTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCT  
10 AGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTA  
CAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCGTTTGGTATGGCTTCATTCAGCTCCGG  
TTCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCCATGTTGTGCAAAAAAGC  
GGTTAGCTCCTTCGGTCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAGTTGGCCGCAGTG  
TTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTCATGCCATC  
15 CGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCATTCTGAGAA  
TAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAATACGGGATAATA  
CCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATCATTGGAAAACGTTCTTC  
GGGGCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAA  
CCCCTCGTGCACCCAACCTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTC  
20 TGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGG  
CGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTCAATATTATTGAAG  
CATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAG  
AAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCAC

**[00029]** Карта вектора pGAR представлена ниже:



[00030] Подходящие дополнительные типовые векторы включают, например, pBABE-puro, pBABE-neo largeTcDNA, pBABE-hygro-hTERT, pMKO.1 GFP, MSCV-IRES-GFP, pMSCV PIG (пустая плазида Puro IRES GFP), pMSCV-loxp-dsRed-loxp-eGFP-Puro-WPRE, MSCV IRES Luciferase, pMIG, MDH1-PGK-GFP\_2.0, TtRMPVIR, pMSCV-IRES-mCherry FP, pRetroX GFP T2A Cre, pRXTN, pLncEXP и pLXIN-Luc.

[00031] Типовые иммунные клетки включают, но не ограничиваются перечисленными, Т-клетки, лимфоциты, инфильтрующие опухоль (TIL), NK-клетки, экспрессирующие TCR клетки, дендритные клетки или NK-Т-клетки. Т-клетки могут быть аутологичными, аллогенными или гетерологичными. В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим иммунные клетки согласно настоящему описанию.

[00032] В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам (и химерным рецепторам антигенов, содержащим эти молекулы), содержащим по меньшей мере один из:

- (a) области VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, и области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21;

(b) области VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55;

5 (c) области VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, и области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77;

(d) области VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99;

10 и где области или области VH и VL связаны с помощью по меньшей мере одного линкера. Настоящее изобретение также относится к химерным рецепторам антигенов и/или антигенсвязывающим молекулам, содержащим не более 8 аминокислотных замен.

**[00033]** Линкер может представлять собой, например, полиглициновый линкер, такой как GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 130) или GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 145).

**[00034]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам (и химерным рецепторам антигенов, содержащим эти молекулы), где линкер содержит по меньшей мере одну из последовательностей SEQ ID NO. 130 и SEQ ID NO. 132.

**[00035]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам и/или химерным рецепторам антигенов, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по 25 меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны антигенсвязывающим молекулам и/или химерным рецепторам антигенов, представленным в настоящем описании.

30 **[00036]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, содержащим по меньшей мере одну из

последовательностей: SEQ ID NO. 27; SEQ ID NO. 31; SEQ ID NO. 35; SEQ ID NO. 39; SEQ ID NO. 43; SEQ ID NO. 47; SEQ ID NO. 61; SEQ ID NO. 65; SEQ ID NO. 69; SEQ ID NO. 83; SEQ ID NO. 87; SEQ ID NO. 91; SEQ ID NO. 105; SEQ ID NO. 109; SEQ ID NO. 113; SEQ ID NO. 117; SEQ ID NO. 121 и SEQ ID NO. 125.

5 **[00037]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по  
10 меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны полинуклеотидам, представленным в настоящем описании.

**[00038]** Настоящее изобретение также относится к векторам, содержащим эти полинуклеотиды, а также к клеткам, трансдуцированным с применением этих векторов.

15 **[00039]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полипептидам, содержащим аминокислотную последовательность, представляющую собой по меньшей мере одну из: SEQ ID NO. 28; SEQ ID NO. 32; SEQ ID NO. 36; SEQ ID NO. 40; SEQ ID NO. 44; SEQ ID NO. 48; SEQ ID NO. 62; SEQ ID NO. 66; SEQ ID NO. 70; SEQ ID NO. 84; SEQ ID NO. 88; SEQ ID NO. 92; SEQ ID NO. 106;  
20 SEQ ID NO. 110; SEQ ID NO. 114; SEQ ID NO. 118; SEQ ID NO. 122 и SEQ ID NO. 126. В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к векторам, кодирующим эти полипептиды, к иммунным клеткам, содержащим эти полипептиды. Предпочтительные иммунные клетки включают Т-клетки, лимфоциты, инфильтрующие опухоль (TIL), NK-клетки, экспрессирующие TCR клетки, дендритные клетки или NK-Т-клетки. Т-клетки могут быть аутологичными,  
25 аллогенными или гетерологичными. Настоящее изобретение также относится к химерным рецепторам антигенов, содержащим не более 8 аминокислотных замен.

**[00040]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или  
30 Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом указанная антигенсвязывающая молекула содержит CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (V<sub>H</sub>), содержащий

аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 53, 75 и 97. Настоящее изобретение также относится к химерным рецепторам антигенов, содержащим не более 8 аминокислотных замен. Указанные полинуклеотиды могут дополнительно содержать домен активации. В 5 предпочтительных вариантах реализации домен активации представляет собой CD3, более предпочтительно CD3 дзета, более предпочтительно аминокислотную последовательность, представляющую собой SEQ ID NO. 9.

**[00041]** В других вариантах реализации настоящее изобретение включает 10 костимулирующий домен, содержащий сигнальный домен (или другой подходящий участок) 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, PD-1, ICOS, ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (члена 14 суперсемейства фактора некроза опухолей; TNFSF14), NKG2C, Ig 15 альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы MHC класса I, ФНО, TNF $\alpha$ , интегрина, сигнальной молекулы активации лимфоцитов, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, 20 CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), 25 SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда CD83 или их фрагменты или комбинации. Предпочтительные костимулирующие домены перечислены ниже в тексте настоящего описания.

**[00042]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к 30 выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом указанная антигенсвязывающая молекула содержит CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID



NO: 24, 58, 80 и 102. Указанный полинуклеотид может дополнительно содержать домен активации. Указанный полинуклеотид может дополнительно содержать костимулирующий домен.

5 **[00043]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 17), CDR2 (SEQ ID NO. 18) и CDR3 (SEQ ID NO. 19), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы  
10 содержит CDR1 (SEQ ID NO. 22), CDR2 (SEQ ID NO. 23) и CDR3 (SEQ ID NO. 24).

**[00044]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по  
15 меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны описанным выше последовательностям.

**[00045]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или  
20 Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 51), CDR2 (SEQ ID NO. 52) и CDR3 (SEQ ID NO. 53), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 56), CDR2 (SEQ ID NO. 57) и CDR3 (SEQ ID NO. 58).

25 **[00046]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по  
30 меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны описанным выше последовательностям.

**[00047]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 73), CDR2 (SEQ ID NO. 74) и CDR3 (SEQ ID NO. 75), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 78), CDR2 (SEQ ID NO. 79) и CDR3 (SEQ ID NO. 80).

**[00048]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны описанным выше последовательностям.

**[00049]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 95), CDR2 (SEQ ID NO. 96) и CDR3 (SEQ ID NO. 97), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 100), CDR2 (SEQ ID NO. 101) и CDR3 (SEQ ID NO. 102).

**[00050]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, которые на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентичны описанным выше последовательностям.

**[00051]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий антигенсвязывающую молекулу, которая

специфично связывается с CLL-1, при этом указанная антигенсвязывающая молекула содержит:

- 5 (a) участок, определяющий комплементарность (CDR), 1 варибельной области тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность GX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub> (SEQ ID NO: 134), где X<sub>2</sub> представляет собой G, F или Y; X<sub>3</sub> представляет собой S или T; X<sub>4</sub> представляет собой I, F или L; X<sub>5</sub> представляет собой S или T; X<sub>6</sub> отсутствует или представляет собой S; X<sub>7</sub> отсутствует или представляет собой G; X<sub>8</sub> отсутствует или представляет собой E или G и X<sub>9</sub> представляет собой F, L или Y;
- 10 (b) участок, определяющий комплементарность (CDR), 2 варибельной области тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub> (SEQ ID NO: 135), где X<sub>1</sub> представляет собой D, H, S или Y; X<sub>2</sub> представляет собой H, P или Y; X<sub>3</sub> представляет собой D, E или S; X<sub>4</sub> представляет собой D или G; X<sub>5</sub> представляет собой G или S и X<sub>6</sub>
- 15 отсутствует или представляет собой D или E;
- (c) участок, определяющий комплементарность (CDR), 3 варибельной области тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>DY (SEQ ID NO: 136), где X<sub>1</sub> представляет собой E или L; X<sub>2</sub> представляет собой R, S или V; X<sub>3</sub> представляет собой R
- 20 или Y; X<sub>4</sub> представляет собой C, G или S; X<sub>5</sub> отсутствует или представляет собой G или I; X<sub>6</sub> отсутствует или представляет собой G; X<sub>7</sub> отсутствует или представляет собой D; X<sub>8</sub> отсутствует или представляет собой C; X<sub>9</sub> отсутствует или представляет собой W или Y; X<sub>10</sub> отсутствует или представляет собой P или S; X<sub>11</sub> отсутствует или представляет собой G или
- 25 Y и X<sub>12</sub> представляет собой F или R;
- (d) CDR1 варибельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>ASQX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>LX<sub>11</sub> (SEQ ID NO: 137), где X<sub>1</sub> представляет собой Q или R; X<sub>5</sub> представляет собой D или S; X<sub>6</sub> представляет собой I или V; X<sub>7</sub> представляет собой N или S; X<sub>8</sub> представляет собой N или S; X<sub>9</sub> представляет собой F, L или Y и X<sub>11</sub> представляет собой
- 30 N или T;

(e) CDR2 вариабельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность  $X_1ASX_4X_5X_6X_7$  (SEQ ID NO: 138), где  $X_1$  представляет собой D или G;  $X_4$  представляет собой N, S или T;  $X_5$  представляет собой L или R;  $X_6$  представляет собой A, E или K и  $X_7$  представляет собой S или T; и/или

(f) CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность  $QQX_3X_4X_5X_6PX_8T$  (SEQ ID NO: 139), где  $X_3$  представляет собой S или Y;  $X_4$  представляет собой D, G или Y;  $X_5$  представляет собой N, S или T;  $X_6$  представляет собой L, T или Y и  $X_8$  представляет собой F или I.

**[00052]** Настоящее изобретение также относится к антигенсвязывающим молекулам против CLL-1, содержащим по меньшей мере одну последовательность CDR3 вариабельной области тяжелой цепи или CDR3 вариабельной области легкой цепи, представленную в настоящем описании. Настоящее изобретение также относится к антигенсвязывающим молекулам против CLL-1, содержащим по меньшей мере последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи согласно настоящему описанию. Настоящее изобретение также относится к антигенсвязывающим молекулам против CLL-1, содержащим по меньшей мере последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи согласно настоящему описанию. Настоящее изобретение также относится к антигенсвязывающим молекулам против CLL-1, содержащим как последовательности CDR1, CDR2, CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, так и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи согласно настоящему описанию.

**[00053]** Настоящее изобретение также относится к способам лечения заболевания или расстройства у нуждающегося в этом субъекта, включающим введение указанному субъекту антигенсвязывающих молекул, CAR, TCR, полинуклеотидов, векторов, клеток или композиций в соответствии с настоящим изобретением. Подходящие заболевания включают, но не ограничиваются перечисленными, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), ювенильный миеломоноцитарный лейкоз, атипичный хронический миелоидный лейкоз, острый

промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ), острый монобластный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, миелодиспластический синдром (МДС), миелопролиферативное заболевание, миелоидное новообразование, миелоидную саркому, бластическое плазмоцитоидное дендритное клеточное новообразование  
5 (BPDCN) или их комбинации. Дополнительные заболевания включают воспалительные и/или аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит, псориаз, аллергия, астма, болезнь Крона, ВЗК, СРК, фибромиалгия, мастоцитоз и целиакия.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

10 **[00054]** На ФИГУРЕ 1 показана экспрессия CLL-1 в различных линиях раковых клеток.

**[00055]** На ФИГУРЕ 2 показана экспрессия CAR против CLL-1, определяемая по белку L, через 6 часов после электропорации мРНК.

15 **[00056]** На ФИГУРЕ 3 показаны результаты анализа высвобождения цитокинов из различных сконструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, через 24 часа после электропорации мРНК.

**[00057]** На ФИГУРЕ 4 показана цитолитическая активность различных сконструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, через 24 часа после электропорации мРНК.

20 **[00058]** На ФИГУРЕ 5 показана цитолитическая активность различных сконструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, через 24 часа после электропорации мРНК.

**[00059]** На ФИГУРЕ 6 показана экспрессия CAR против CLL-1, определяемая по белку L, на 12 день после трансдукции.

25 **[00060]** На ФИГУРЕ 7 показаны результаты анализа высвобождения цитокинов из Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, после совместного культивирования в течение 16 часов с различными линиями клеток-мишеней.

**[00061]** На ФИГУРЕ 8 показана цитолитическая активность Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, после совместного культивирования в течение  
30 16 часов и 40 часов с различными линиями клеток-мишеней.

[00062] На ФИГУРАХ 9А-9D представлены выравнивания последовательностей антигенсвязывающих молекул против CLL-1 согласно настоящему изобретению. CDR обозначены с помощью рамок.

[00063] На ФИГУРЕ 10 представлены результаты измерений методом биолюминесцентной визуализации на мышах NSG, подвергнутых действию CAR в соответствии с настоящим изобретением.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00064] Следует понимать, что химерные рецепторы антигенов (CAR или CAR-T) и Т-клеточные рецепторы (TCR) представляют собой рецепторы, созданные методами генетической инженерии. Эти сконструированные рецепторы могут легко быть введены в иммунные клетки и экспрессироваться иммунными клетками, включая Т-клетки, с применением способов, известных в данной области техники. С помощью CAR один и тот же рецептор может быть запрограммирован как на распознавание конкретного антигена, так и, при связывании с этим антигеном, на активацию иммунной клетки для атаки и разрушения несущей этот антиген клетки. В случае, когда эти антигены присутствуют на опухолевых клетках, иммунная клетка, экспрессирующая CAR, может нацеливаться на опухолевую клетку и уничтожать ее.

[00065] CAR могут быть сконструированы для связывания с антигеном (таким как антиген клеточной поверхности) путем включения в них антигенсвязывающей молекулы, которая взаимодействует с этим антигеном-мишенью. Предпочтительно, антигенсвязывающая молекула представляет собой фрагмент специфичного к этому антигену антитела и, более предпочтительно, один или более одноцепочечных фрагментов антитела («scFv»). ScFv представляет собой одноцепочечный фрагмент антитела, содержащий соединенные друг с другом переменные области тяжелой и легкой цепей антитела. См. патенты США №№ 7741465 и 6319494, а также Eshhar *et al.*, *Cancer Immunol Immunotherapy* (1997) 45: 131-136. ScFv сохраняет способность исходного антитела к специфичному взаимодействию с антигеном-мишенью. scFv предпочтительны для применения в химерных рецепторах антигенов, поскольку они могут быть сконструированы для экспрессии в виде части единственной цепи вместе с другими компонентами CAR. Там же. См. также Krause *et al.*, *J. Exp. Med.*, Volume 188, No. 4, 1998 (619-626); Finney *et al.*, *Journal of Immunology*, 1998, 161: 2791-2797. Следует

понимать, что антигенсвязывающая молекула обычно содержится внутри внеклеточного участка CAR, так что она способна распознавать и связывать целевой антиген. Биспецифичные и мультиспецифичные CAR, имеющие специфичность более чем к одной целевой мишени, находятся в рамках настоящего изобретения.

5

#### **Костимулирующие домены.**

**[00066]** Химерные рецепторы антигенов могут содержать костимулирующие (сигнальные) домены для увеличения их активности. См. патенты США №№ 7741465 и 6319494, а также Krause *et al.* и Finney *et al.* (см. выше), Song *et al.*, Blood 119:696-706 (2012); Kalos *et al.*, Sci Transl. Med. 3:95 (2011); Porter *et al.*, N. Engl. J. Med. 365:725-33 (2011) и Gross *et al.*, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 56:59-83 (2016). Например, CD28 представляет собой природный костимулирующий белок, обнаруженный на Т-клетках. В настоящем описании представлены различные костимулирующие молекулы, но следует понимать, что дополнительные костимулирующие молекулы также включены в объем настоящего изобретения.

10

15 **[00067]** Полная природная аминокислотная последовательность CD28 описана как эталонная последовательность NP\_006130.1 в базе данных NCBI. Полная природная нуклеотидная последовательность CD28 описана как эталонная последовательность NM\_006139.1 в базе данных NCBI.

20

**[00068]** Некоторые домены CD28 были использованы для химерных рецепторов антигенов. В соответствии с настоящим изобретением было обнаружено, что новый сконструированный внеклеточный (шарнирный) домен CD28, называемый «CD28Т», неожиданно обеспечивает некоторые преимущества при применении в конструкции CAR. Эта конструкция демонстрирует способность сохранять (и в некоторых случаях превосходить) свойства CAR, содержащих CD28, несмотря на усечение (удаление) нескольких аминокислот из последовательности внеклеточного участка CD28. Эти преимущества включают эквивалентную или лучшую выработку цитокинов, эквивалентную или лучшую цитолитическую активность и/или эквивалентные или лучшие уровни экспрессии CAR.

25

**[00069]** Нуклеотидная последовательность молекулы CD28Т, содержащей внеклеточный домен и трансмембранный и внутриклеточный домены CD28, представляет собой SEQ ID NO. 1:

30

CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGC  
ACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGT  
TGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTG  
GCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAG  
5 CGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACAC  
TACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC

**[00070]** Соответствующая аминокислотная последовательность представляет собой SEQ ID NO. 2:

LDNEKSNGTIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAF  
10 IIFWVRSK RSRLHSDYM NMTPRRPGPT RKHYQPYAPP RDFAAAYS

**[00071]** Нуклеотидная последовательность внеклеточного участка CD28T представляет собой SEQ ID NO. 3:

CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGC  
ACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCA

15 **[00072]** Соответствующая аминокислотная последовательность внеклеточного домена CD28T представляет собой SEQ ID NO. 4: LDNEKSNGTIHVKGKHLCP SPLFPGPSKP

**[00073]** Нуклеотидная последовательность трансмембранного домена CD28 представляет собой SEQ ID NO. 5:

20 TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTC  
GTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTT

**[00074]** Аминокислотная последовательность трансмембранного домена CD28 представляет собой SEQ ID NO. 6: FWVLVVVGGV LACYSLLVTV AFIIWV

25 **[00075]** Нуклеотидная последовательность внутриклеточного сигнального домена CD28 представляет собой SEQ ID NO. 7:

AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTC  
CACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACC  
TAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC

30 **[00076]** Аминокислотная последовательность внутриклеточного сигнального домена CD28 представляет собой SEQ ID NO. 8:



RSKRSLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS

**[00077]** Дополнительные последовательности CD28, подходящие для применения в соответствии с настоящим изобретением, включают нуклеотидную последовательность CD28, представляющую собой SEQ ID NO. 11:

5           ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACG  
          GTACCATCATTCACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCCTTCTCCCCTCTTC  
          CCCGGGCCATCAAAGCCC

**[00078]** Соответствующая аминокислотная последовательность представляет собой SEQ ID NO. 12:

10           IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP

**[00079]** Следует понимать, что настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, CAR, TCR и им подобным, содержащим по меньшей мере одну выделенную нуклеотидную последовательность SEQ ID NO. 1 или SEQ ID NO. 3. Также следует понимать, что настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, CAR, TCR и им подобным, где внеклеточный участок состоит из по меньшей мере одной выделенной нуклеотидной последовательности SEQ ID NO. 1 или SEQ ID NO. 3. Кроме того, следует понимать, что настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, CAR, TCR и им подобным, где внеклеточный участок состоит по существу из по меньшей мере одной выделенной нуклеотидной последовательности SEQ ID NO. 1 или SEQ ID NO. 3.

**[00080]** Следует понимать, что настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, CAR, TCR и им подобным, содержащим по меньшей мере одну аминокислотную последовательность SEQ ID NO. 2 или SEQ ID NO. 4. Также следует понимать, что настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, CAR, TCR и им подобным, где внеклеточный участок состоит из по меньшей мере одной аминокислотной последовательности SEQ ID NO. 2 или SEQ ID NO. 4. Также следует понимать, что настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, CAR, TCR и им подобным, где внеклеточный участок состоит по существу из по меньшей мере одной аминокислотной последовательности SEQ ID NO. 2 или SEQ ID NO. 4.

**[00081]** Другой подходящий источник внеклеточных и/или трансмембранных доменов может быть получен из (или соответствовать) некоторым участкам или всей молекулы CD8. Нуклеотидная последовательность подходящего внеклеточного и трансмембранного домена CD8 представляет собой SEQ ID NO. 13:

5 GCTGCAGCATTTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGT  
GTTCTTGCCGGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCC  
CAGCTCCTACCATCGCTTCACAGCCTCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCTTGC  
CGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTTTCATACCAGAGGACTGGATTTTCGCCT  
GCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGGGCGTACTCCTG  
10 CTGTCCCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC

**[00082]** Соответствующая аминокислотная последовательность представляет собой SEQ ID NO. 14:

AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA  
GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN

15 **[00083]** Следует понимать, что подходящие костимулирующие домены в рамках настоящего изобретения могут быть получены из (или соответствовать), например, 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, PD-1, ICOS, ассоциированного с функцией  
20 лимфоцитов антигена-1 (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (члена 14 суперсемейства фактора некроза опухолей; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы МНС класса I, ФНО, TNF $\alpha$ , интегрин, сигнальной молекулы активации лимфоцитов, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7,  
25 NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM,  
30 Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда CD83 или их фрагментов или

комбинаций. Следует понимать, что дополнительные костимулирующие молекулы или их фрагменты, не перечисленные выше, включены в объем настоящего изобретения.

### Домены активации.

5 **[00084]** CD3 представляет собой элемент Т-клеточного рецептора на природных Т-клетках, и было показано, что он является важным внутриклеточным активирующим элементом в CAR. В предпочтительном варианте реализации CD3 представляет собой CD3 дзета, нуклеотидная последовательность которого представляет собой SEQ ID NO. 9:

10 AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCC  
AGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATG  
ACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACC  
AAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGA  
TAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAG  
15 AAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACG  
AAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG

**[00085]** Соответствующая аминокислотная последовательность внутриклеточного CD3 дзета представляет собой SEQ ID NO. 10:

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR  
20 RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDT  
YDALHMQALPPR

### Ориентация домена относительно клетки

**[00086]** Следует понимать, что домены согласно настоящему описанию с точки зрения структуры соответствуют положению относительно иммунной или другой  
25 клетки. Таким образом, эти домены могут быть частью (i) «шарнирного» или внеклеточного (EC) домена, (ii) трансмембранного (TM) домена и/или (iii) внутриклеточного/цитоплазматического домена (IC). Внутриклеточный компонент часто содержит, в том числе, домен активации, такой как участок члена семейства CD3, предпочтительно CD3 дзета. Этот домен способен активировать Т-клетку при  
30 связывании антигенсвязывающей молекулы с ее мишенью. Следует понимать, что

внутриклеточный домен обычно дополнительно содержит одну или более костимулирующих молекул согласно настоящему описанию.

**[00087]** «Активация» или «стимуляция» в настоящем описании относится к первичному ответу, индуцируемому путем связывания активирующей молекулы с ее когнатным лигандом, при этом указанное связывание опосредует событие передачи сигнала.

**[00088]** «Активирующая молекула» или «стимулирующая молекула» относится к молекуле на Т-клетке, например, комплексу TCR/CD3, который специфично связывается с когнатным стимулирующим лигандом, присутствующим на антигенпрезентирующей клетке. Подходящие активирующие молекулы описаны в настоящем описании.

**[00089]** «Костимулирующая молекула» в настоящем описании относится к молекуле, обеспечивающей сигнал, который опосредует Т-клеточный ответ, включающий, но не ограничивающийся перечисленными, пролиферацию, активацию, дифференцировку и т. п. Костимулирующие молекулы могут обеспечивать сигнал, который является дополнением к первичному сигналу, обеспечиваемому активирующей молекулой согласно настоящему описанию.

**[00090]** Подходящие костимулирующие молекулы включают, но не ограничиваются перечисленными, целые молекулы или участки 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, PD-1, ICOS, ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (члена 14 суперсемейства фактора некроза опухолей; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы МНС класса I, ФНО, TNF $\alpha$ , интегрина, сигнальной молекулы активации лимфоцитов, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM,

Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда CD83 или их фрагменты или комбинации. Следует понимать, что шарнирный участок может содержать некоторые или все из членов семейства иммуноглобулинов, такие как IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgD, IgE, IgM или их фрагмент.

**[00091]** В некоторых вариантах реализации внеклеточный домен расположен между антигенсвязывающей молекулой и трансмембранным доменом.

**[00092]** Примеры конструкций CAR в соответствии с настоящим изобретением представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

<b>Название конструкции</b>	<b>scFv</b>	<b>Шарнирный домен</b>	<b>Домен активации</b>
<b>24C1 CD28T</b>	24C1	CD28T	CD3 дзета
<b>24C1 CD28</b>	24C1	CD28	CD3 дзета
<b>24C1 CD8</b>	24C1	CD8	CD3 дзета
<b>24C8 CD28T</b>	24C8	CD28T	CD3 дзета
<b>24C8 CD28</b>	24C8	CD28	CD3 дзета
<b>24C8 CD8</b>	24C8	CD8	CD3 дзета
<b>20C5.1 CD28T</b>	20C5.1	CD28T	CD3 дзета
<b>20C5.1 CD28</b>	20C5.1	CD28	CD3 дзета
<b>20C5.1 CD8</b>	20C5.1	CD8	CD3 дзета
<b>20C5.2 CD28T</b>	20C5.2	CD28T	CD3 дзета
<b>20C5.2 CD28</b>	20C5.2	CD28	CD3 дзета
<b>20C5.2 CD8</b>	20C5.2	CD8	CD3 дзета

- 5 **[00093]** Как было отмечено, сконструированные Т-клетки согласно настоящему изобретению содержат антигенсвязывающую молекулу (такую как scFv), внеклеточный домен (который может содержать «шарнирный» домен), трансмембранный домен и внутриклеточный домен. Внутриклеточный домен может содержать по меньшей мере частично домен активации, предпочтительно состоящий из члена семейства CD3, такого как CD3 дзета, CD3 эпсилон, CD3 гамма или их участки.
- 10 **[00094]** Также следует понимать, что антигенсвязывающая молекула (например, один или более scFv) сконструирована таким образом, что она расположена во внеклеточном участке молекулы/конструкции, так что она способна распознавать и связывать ее мишень или мишени.

**[00095] Внеклеточный домен.** Внеклеточные домены, применяемые, в частности, в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены из (то есть содержать) всех или некоторых из CD28, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, белка 1 программируемой смерти (PD-1), индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS), ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы МНС класса I, белков-рецепторов ФНО, белка иммуноглобулина, рецептора цитокина, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов NK-клеток, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, специфично связывающегося с CD83, или любой их комбинации. Внеклеточный домен может быть получен либо из природного, либо из синтетического источника.

**[00096]** Внеклеточные домены часто содержат шарнирный участок, иногда называемый «спейсерным» участком. В соответствии с настоящим изобретением могут применяться различные шарнирные участки, включая участки или производные молекул согласно настоящему описанию.

**[00097]** В некоторых вариантах реализации шарнирный участок содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентична аминокислотным последовательностям внеклеточного домена, представленным в настоящем описании.

[00098] В некоторых вариантах реализации шарнирный участок содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100% идентична аминокислотным последовательностям внеклеточного участка, представленным в настоящем описании.

### Трансмембранный домен

10 [00099] CAR может быть сконструирован таким образом, что его трансмембранный домен является слитым с внеклеточным доменом CAR. Аналогично, он может быть слитым с внутриклеточным доменом CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен может быть выбран или модифицирован путем замены аминокислоты во избежание связывания таких доменов с трансмембранными доменами тех же самых или других поверхностных мембранных белков для минимизации взаимодействий с другими членами рецепторного комплекса.

15 Трансмембранный домен может быть получен либо из природного, либо из синтетического источника. В случае природного источника этот домен может быть получен из любого связанного с мембраной или трансмембранного белка.

20 Трансмембранные участки, применяемые, в частности, в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены из (содержать или соответствовать) CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, белка 1 программируемой смерти (PD-1), индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS), ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3

25 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы МНС класса I, белков-рецепторов ФНО, белка иммуноглобулина, рецептора цитокина, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов NK-клеток, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR),

30 KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D,



TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, специфично связывающегося с CD83, или любой их комбинации.

**[000100]** Необязательно, короткие линкеры могут образовывать связи между любыми или некоторыми из внеклеточных, трансмембранных и внутриклеточных доменов CAR.

**[000101]** В других вариантах реализации трансмембранный домен в CAR согласно настоящему изобретению представляет собой трансмембранный домен CD8. В одном варианте реализации трансмембранный домен CD8 содержит трансмембранный участок, которому соответствует нуклеотидная последовательность SEQ ID NO: 13. В другом варианте реализации трансмембранный домен CD8 содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность трансмембранного участка, содержащуюся внутри SEQ ID NO: 14.

**[000102]** В некоторых вариантах реализации трансмембранный домен в CAR согласно настоящему изобретению представляет собой трансмембранный домен CD28. В одном варианте реализации трансмембранный домен CD28 содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5. В другом варианте реализации трансмембранный домен CD28 содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В другом варианте реализации трансмембранный домен CD28 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.

**[000103]** **Внутриклеточный (цитоплазматический) домен.** Внутриклеточный (цитоплазматический) домен конструированных Т-клеток согласно настоящему изобретению может обеспечивать активацию по меньшей мере одной из нормальных эффекторных функций иммунной клетки. Эффекторная функция Т-клетки, например, может относиться к цитолитической активности или хелперной активности, включая секрецию цитокинов.

**[000104]** Следует понимать, что подходящие внутриклеточные молекулы включают (то есть содержат), но не ограничиваются перечисленными, сигнальные домены, полученные из (или соответствующие) CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137,

CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, белка 1 программируемой смерти (PD-1), индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS), ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc-рецептора гамма, молекулы МНС класса I, белков-рецепторов ФНО, белка иммуноглобулина, рецептора цитокина, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов NK-клеток, BTLA, рецептора Toll лиганда, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, специфично связывающегося с CD83, или любую их комбинацию.

**[000105]** В предпочтительном варианте реализации внутриклеточный/цитоплазматический домен CAR может быть сконструирован таким образом, что он содержит домен CD3 дзета как таковой или в комбинации с одним или более любыми другими желаемыми внутриклеточными доменами, подходящими в контексте применения в CAR согласно настоящему изобретению. Например, внутриклеточный домен CAR может содержать участок цепи CD3 дзета и участок костимулирующей сигнальной молекулы. Внутриклеточные сигнальные последовательности внутри внутриклеточного сигнального участка CAR согласно настоящему изобретению могут быть связаны друг с другом в произвольном или заданном порядке.

**[000106]** В другом предпочтительном варианте реализации внутриклеточный домен сконструирован таким образом, что он содержит домен активации CD3 дзета и сигнальный домен CD28. В другом варианте реализации внутриклеточный домен сконструирован таким образом, что он содержит домен активации CD3 дзета и сигнальный домен 4-1BB. В другом варианте реализации внутриклеточный домен в CAR сконструирован таким образом, что он содержит участок CD28 и CD3 дзета, при

этом внутриклеточный участок CD28 содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой SEQ ID NO: 7, и аминокислотную последовательность, представляющую собой SEQ ID NO. 8. Нуклеотидная последовательность CD3 дзета представляет собой SEQ ID NO: 9, а его аминокислотная последовательность  
5 представляет собой SEQ ID NO. 8.

**[000107]** Следует понимать, что одна предпочтительная ориентация CAR согласно настоящему изобретению содержит антигенсвязывающую молекулу (такую как scFv) в тандеме с внеклеточным и/или шарнирным доменом, костимулирующим доменом и доменом активации. Также следует понимать, что в тандеме могут  
10 применяться несколько доменов.

**[000108]** В некоторых вариантах реализации предложены выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие промотор, который функционально связан с первым полинуклеотидом, кодирующим антигенсвязывающую молекулу, по меньшей мере одну костимулирующую молекулу и домен активации. В некоторых вариантах  
15 реализации конструкция нуклеиновой кислоты содержится внутри вирусного вектора. В некоторых вариантах реализации вирусный вектор выбран из группы, состоящей из ретровирусных векторов, векторов на основе вируса лейкоза мышей, SFG-векторов, аденовирусных векторов, лентивирусных векторов, аденоассоциированных вирусных векторов (AAV), векторов на основе вируса простого герпеса и векторов на основе  
20 вируса осповакцины. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота содержится внутри плазмиды.

**[000109]** В некоторых вариантах реализации сконструированная иммунная клетка представляет собой Т-клетку, инфильтрующий опухоль лимфоцит (TIL), NK-клетку, экспрессирующую TCR клетку, дендритную клетку или NK-Т-клетку. В некоторых  
25 вариантах реализации клетку получают или выделяют из периферической крови. В некоторых вариантах реализации клетку получают или выделяют из мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК). В некоторых вариантах реализации клетку получают или выделяют из костного мозга. В некоторых вариантах реализации клетку получают или выделяют из пуповинной крови. В некоторых вариантах реализации  
30 клетка представляет собой клетку человека. В некоторых вариантах реализации клетку трансфицируют или трансдуцируют с помощью вектора, содержащего нуклеиновую кислоту, с применением способа, выбранного из группы, состоящей из

электропорации, сонопорации, баллистической трансфекции (например, технологии Gene Gun), трансфекции с использованием липидов, трансфекции с использованием полимеров, наночастиц или полиплексов.

5 [000110] В некоторых вариантах реализации химерные рецепторы антигенов экспрессируются в конструированных иммунных клетках, которые содержат нуклеиновые кислоты согласно настоящей заявке. В некоторых вариантах реализации эти химерные рецепторы антигенов согласно настоящей заявке могут содержать (i) антигенсвязывающую молекулу (такую как scFv), (ii) трансмембранный участок и (iii) молекулу или участок активации Т-клеток.

10 [000111] Также следует понимать, что в настоящем описании во всех случаях описания аспектов с использованием термина «содержащий» также предложены аналогичные аспекты, описанные иначе в терминах «состоящий из» и/или «состоящий по существу из».

15 [000112] Кроме того, термины «примерно» или «состоящий по существу из» относятся к значению или составу, которые находятся в пределах допустимого диапазона погрешностей для конкретного значения или состава, определяемого специалистом в данной области техники, и данный диапазон отчасти будет зависеть от способа измерения или определения значения или состава, то есть от ограничений измерительной системы. Например, «примерно» или «состоящий по существу из» на  
20 практике в данной области техники может означать в пределах 1 или более чем 1 стандартных отклонений. Альтернативно, «примерно» или «состоящий по существу из» может означать диапазон до 10% (то есть  $\pm 10\%$ ). Например, приблизительно 3 мг может включать любое количество от 2,7 мг до 3,3 мг (для 10%). Кроме того, в частности, в отношении биологических систем или процессов, указанные термины  
25 могут иметь значение до порядка величины или до 5-кратного значения величины. В случаях, когда в настоящей заявке и прилагаемой формуле изобретения предложены конкретные значения или составы, если не указано иное, следует считать, что «примерно» или «состоящий по существу из» означают нахождение в пределах допустимого диапазона погрешностей для этого конкретного значения или состава.

30

### **Антигенсвязывающие молекулы**

**[000113]** Антигенсвязывающие молекулы включены в объем настоящего изобретения. «Антигенсвязывающая молекула» в настоящем описании означает любой белок, который связывает специфичный антиген-мишень. В настоящей заявке специфичный антиген-мишень представляет собой белок CLL-1 или его фрагмент.

5 Антигенсвязывающие молекулы включают, но не ограничиваются перечисленными, антитела и их связывающие участки, такие как иммунологически функциональные фрагменты. Пептитела (то есть слитые с Fc молекулы, содержащие пептидсвязывающие домены) представляют собой другой пример подходящих антигенсвязывающих молекул.

10 **[000114]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающей молекуле, содержащей:

(a) участок, определяющий комплементарность (CDR), 1 вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность GX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub> (SEQ ID NO: 134), где X<sub>2</sub> представляет собой G, F или Y; X<sub>3</sub> представляет собой S или T; X<sub>4</sub> представляет собой I, F или L; X<sub>5</sub> представляет собой S или T; X<sub>6</sub> отсутствует или представляет собой S; X<sub>7</sub> отсутствует или представляет собой G; X<sub>8</sub> отсутствует или представляет собой E или G и X<sub>9</sub> представляет собой F, L или Y;

15

(b) участок, определяющий комплементарность (CDR), 2 вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub> (SEQ ID NO: 135), где X<sub>1</sub> представляет собой D, H, S или Y; X<sub>2</sub> представляет собой H, P или Y; X<sub>3</sub> представляет собой D, E или S; X<sub>4</sub> представляет собой D или G; X<sub>5</sub> представляет собой G или S и X<sub>6</sub> отсутствует или представляет собой D или E;

20

(c) участок, определяющий комплементарность (CDR), 3 вариабельной области тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>DY (SEQ ID NO: 136), где X<sub>1</sub> представляет собой E или L; X<sub>2</sub> представляет собой R, S или V; X<sub>3</sub> представляет собой R или Y; X<sub>4</sub> представляет собой C, G или S; X<sub>5</sub> отсутствует или представляет собой G или I; X<sub>6</sub> отсутствует или представляет собой G; X<sub>7</sub> отсутствует или представляет собой D; X<sub>8</sub> отсутствует или представляет собой C; X<sub>9</sub> отсутствует или представляет собой W или Y; X<sub>10</sub> отсутствует или

25

30

представляет собой Р или S; X<sub>11</sub> отсутствует или представляет собой G или Y и X<sub>12</sub> представляет собой F или R;

- 5 (d) CDR1 вариабельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>ASQX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>LX<sub>11</sub> (SEQ ID NO: 137), где X<sub>1</sub> представляет собой Q или R; X<sub>5</sub> представляет собой D или S; X<sub>6</sub> представляет собой I или V; X<sub>7</sub> представляет собой N или S; X<sub>8</sub> представляет собой N или S; X<sub>9</sub> представляет собой F, L или Y и X<sub>11</sub> представляет собой N или T;
- 10 (e) CDR2 вариабельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность X<sub>1</sub>ASX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 138), где X<sub>1</sub> представляет собой D или G; X<sub>4</sub> представляет собой N, S или T; X<sub>5</sub> представляет собой L или R; X<sub>6</sub> представляет собой A, E или K и X<sub>7</sub> представляет собой S или T; и/или
- 15 (f) CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность QQX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>PX<sub>8</sub>T (SEQ ID NO: 139), где X<sub>3</sub> представляет собой S или Y; X<sub>4</sub> представляет собой D, G или Y; X<sub>5</sub> представляет собой N, S или T; X<sub>6</sub> представляет собой L, T или Y и X<sub>8</sub> представляет собой F или I.

[000115] В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, содержащим по меньшей мере один из: (a) CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17, 51, 73, 95, 5 и 97; (b) CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 18, 52, 74, 96; (c) CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 19, 53, 75 и 97; (d) CDR1 вариабельной области легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22, 56, 78 и 100; (e) CDR2 вариабельной области легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO. 23, 57, 79 и 101; (f) CDR3 вариабельной области легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID

NO. 24, 58, 80 и 102.

**[000116]** В других вариантах реализации изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам (и химерным рецепторам антигенов, содержащим эти молекулы), содержащим по меньшей мере один из: (а) области VH, которая  
5 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, и области VL, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21; (b) области VH, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, и области VL, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55; (c) области  
10 VH, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, и области VL, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; (d) области VH, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и области VL, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и при этом область или области VH и VL соединены с помощью по меньшей мере одного линкера. В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к  
15 антигенсвязывающим молекулам (и химерным рецепторам антигенов, содержащим эти молекулы), где линкер содержит по меньшей мере одну из последовательностей SEQ ID NO. 130 и SEQ ID NO. 132.

**[000117]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающим молекулам, содержащим CDR3 варибельной области легкой  
20 цепи ( $V_L$ ), содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 24, 58, 80 и 102.

**[000118]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к выделенным полинуклеотидам, кодирующим антигенсвязывающую молекулу, которая  
25 специфично связывается с CLL-1, при этом тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 17), CDR2 (SEQ ID NO. 18) и CDR3 (SEQ ID NO. 19), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 22), CDR2 (SEQ ID NO. 23) и CDR3 (SEQ ID NO. 24).

**[000119]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающей молекуле, которая специфично связывается с CLL-1, при этом  
30 тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 51), CDR2 (SEQ ID NO. 52) и CDR3 (SEQ ID NO. 53), а легкая цепь указанной

антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 56), CDR2 (SEQ ID NO. 57) и CDR3 (SEQ ID NO. 58).

**[000120]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к антигенсвязывающей молекуле, которая специфично связывается с CLL-1, при этом  
5 тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 73), CDR2 (SEQ ID NO. 74) и CDR3 (SEQ ID NO. 75), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 78), CDR2 (SEQ ID NO. 79) и CDR3 (SEQ ID NO. 80).

**[000121]** В других вариантах реализации настоящее изобретение относится к  
10 выделенным полинуклеотидам, кодирующим антигенсвязывающую молекулу, которая специфично связывается с CLL-1, при этом тяжелая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 95), CDR2 (SEQ ID NO. 96) и CDR3 (SEQ ID NO. 97), а легкая цепь указанной антигенсвязывающей молекулы содержит CDR1 (SEQ ID NO. 100), CDR2 (SEQ ID NO. 101) и CDR3 (SEQ ID NO. 102).

**[000122]** В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к  
15 выделенному полинуклеотиду, кодирующему антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, которая перекрестно конкурирует с одним или более антителами согласно настоящему описанию, или к антигенсвязывающей молекуле, кодируемой указанным полинуклеотидом. В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к  
20 выделенным полинуклеотидам, кодирующим антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, которая связывается с тем же самым эпитопом, что и одна или более антигенсвязывающих молекул согласно настоящему описанию.

**[000123]** В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающая молекула  
25 связывается с антигеном на опухолевой клетке. В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающая молекула связывается с антигеном на клетке, участвующей в гиперпролиферативном заболевании, или с вирусным или бактериальным антигеном. В других вариантах реализации антигенсвязывающая молекула представляет собой антитело или его фрагмент, содержащий один или более участков, определяющих комплементарность (CDR), этого антитела. В других вариантах реализации  
30 антигенсвязывающая молекула представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv).



**[000124]** Термин «иммунологически функциональный фрагмент» (или «фрагмент») антигенсвязывающей молекулы относится к виду антигенсвязывающей молекулы, содержащей участок (независимо от способа получения или синтеза этого участка) антитела, который не содержит по меньшей мере некоторых аминокислот, присутствующих в полноразмерной цепи, но который все еще способен специфично связываться с антигеном. Такие фрагменты биологически активны за счет того, что они связываются с антигеном-мишенью и могут конкурировать с другими антигенсвязывающими молекулами, включая интактные антитела, за связывание с данным эпитопом. В некоторых вариантах реализации фрагменты представляют собой нейтрализующие фрагменты. В некоторых вариантах реализации фрагменты могут блокировать или уменьшать активность CLL-1. В одном аспекте такой фрагмент сохранит по меньшей мере один CDR, присутствующий в полноразмерной легкой или тяжелой цепи, и в некоторых вариантах реализации фрагмент будет содержать единственную тяжелую цепь и/или легкую цепь или ее участок. Эти фрагменты могут быть получены с помощью технологии рекомбинантных ДНК или могут быть получены путем ферментативного или химического расщепления антигенсвязывающих молекул, включая интактные антитела.

**[000125]** Иммунологически функциональные фрагменты иммуноглобулина включают, но не ограничиваются перечисленными, фрагменты scFv, фрагменты Fab (Fab', F(ab')<sub>2</sub> и т. п.), один или более CDR, диатело (вариабельный домен тяжелой цепи и вариабельный домен легкой цепи в составе одного и того же полипептида, соединенные с помощью короткого пептидного линкера, который является слишком коротким для того, чтобы спаривание между двумя указанными доменами в одной и той же цепи было возможным), доменные антитела и одноцепочечные антитела. Эти фрагменты могут быть получены из любого источника, относящегося к млекопитающему, включающему, но не ограничивающемуся перечисленными, человека, мышь, крысу, животное семейства верблюдовых или кролика. Специалисту в данной области техники будет понятно, что антигенсвязывающая молекула может содержать небелковые компоненты.

**[000126]** Варианты антигенсвязывающих молекул также включены в объем настоящего изобретения, например, вариабельные области легкой и/или тяжелой цепей, каждая из которых на по меньшей мере 70-80%, 80-85%, 85-90%, 90- 95%, 95-97%, 97-99% или более 99% идентична аминокислотным последовательностям,

представляющим собой последовательности согласно настоящему описанию. В некоторых случаях такие молекулы содержат по меньшей мере одну тяжелую цепь и одну легкую цепь, тогда как в других случаях варианты формы содержат две идентичные легкие цепи и две идентичные тяжелые цепи (или их субчасти).

5 Специалист в данной области техники сможет определить подходящие варианты антигенсвязывающих молекул, представленных в настоящем описании, с применением хорошо известных методов. В некоторых вариантах реализации специалист в данной области техники может идентифицировать подходящие участки молекулы, которые могут быть изменены без нарушения активности, путем нацеливания на участки,  
10 которые не считаются важными для обеспечения активности.

**[000127]** В некоторых вариантах реализации основу полипептидной структуры антигенсвязывающих молекул составляют антитела, включающие, но не ограничивающиеся перечисленными, моноклональные антитела, биспецифичные антитела, миниантитела, доменные антитела, синтетические антитела (иногда  
15 упоминаемые в настоящем описании как «миметики антител»), химерные антитела, гуманизированные антитела, антитела человека, слитые антитела (иногда упоминаемые в настоящем описании как «конъюгаты антител») и их фрагменты, соответственно. В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающая молекула содержит или состоит из авимеров.

20 **[000128]** В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающую молекулу против CLL-1 вводят в виде части CAR, TCR или другой иммунной клетки. В таких иммунных клетках антигенсвязывающая молекула против CLL-1 может находиться под контролем той же самой промоторной области или отдельного промотора. В некоторых вариантах реализации гены, кодирующие белковые агенты и/или  
25 антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, могут находиться в отдельных векторах.

**[000129]** Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем, солюбилизатором,  
30 эмульгатором, консервантом и/или адъювантом. В некоторых вариантах реализации фармацевтические композиции будут содержать более одной различных антигенсвязывающих молекул против CLL-1. В некоторых вариантах реализации

фармацевтические композиции будут содержать более одной антигенсвязывающих молекул против CLL-1, которые связывают более одного эпитопа. В некоторых вариантах реализации различные антигенсвязывающие молекулы не будут конкурировать друг с другом за связывание с CLL-1.

5 **[000130]** В других вариантах реализации фармацевтическая композиция может быть выбрана для парентеральной доставки, для ингаляции или для доставки через пищеварительный тракт, как то перорально. Получение таких фармацевтически приемлемых композиций находится в пределах возможностей специалиста в данной области техники. В некоторых вариантах реализации используют буферы для  
10 поддержания композиции при физиологическом рН или при несколько более низком рН, как правило, в диапазоне рН от приблизительно 5 до приблизительно 8. В некоторых вариантах реализации, в случае если предусмотрено парентеральное введение, терапевтическая композиция может находиться в форме апирогенного, приемлемого для парентерального введения водного раствора, содержащего желаемую  
15 антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, совместно с дополнительными терапевтическими агентами или без них, в фармацевтически приемлемом носителе. В некоторых вариантах реализации носитель для парентеральной инъекции представляет собой стерильную дистиллированную воду, в которой антигенсвязывающую молекулу против CLL-1, совместно с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим  
20 агентом или без него, готовят в виде стерильного изотонического раствора, содержащего подходящие консерванты. В некоторых вариантах реализации препарат может содержать состав желаемой молекулы с полимерными соединениями (такими как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), частицами или липосомами, которые могут обеспечивать контролируемое или замедленное высвобождение  
25 продукта, который затем может быть доставлен посредством инъекции веществ замедленного всасывания. В некоторых вариантах реализации для введения желаемой молекулы могут быть использованы имплантируемые устройства для доставки лекарственных средств.

**[000131]** В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающую молекулу  
30 применяют в качестве средства для диагностики или подтверждения. Антигенсвязывающая молекула может применяться для анализа количества CLL-1, присутствующего в образце и/или организме субъекта. В некоторых вариантах реализации диагностическая антигенсвязывающая молекула не является

нейтрализующей. В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающие молекулы, раскрытые в настоящем описании, применяются или обеспечиваются в наборе для анализа и/или способе детектирования CLL-1 в тканях или клетках млекопитающих для скрининга/диагностики заболевания или расстройства, связанного с изменениями 5 уровней CLL-1. Указанный набор может содержать антигенсвязывающую молекулу, которая связывает CLL-1, вместе со средствами для оценки связывания антигенсвязывающей молекулы с CLL-1, если она присутствует, и, необязательно, уровней белка CLL-1.

**[000132]** Антигенсвязывающие молекулы будут более понятными с учетом 10 приведенных ниже определений и описаний.

**[000133]** Участок «Fc» содержит два фрагмента тяжелой цепи, содержащие домены CH1 и CH2 антитела. Два фрагмента тяжелой цепи удерживаются вместе за счет двух или более дисульфидных связей и гидрофобных взаимодействий доменов CH3.

15 **[000134]** «Фрагмент Fab» содержит одну легкую цепь и CH1 и переменные области одной тяжелой цепи. Тяжелая цепь молекулы Fab не может образовывать дисульфидную связь с другой молекулой тяжелой цепи. «Фрагмент Fab'» содержит одну легкую цепь и участок одной тяжелой цепи, который содержит домен VH и домен CH1, а также участок между доменами CH1 и CH2, так что между двумя тяжелыми 20 цепями двух фрагментов Fab' может образовываться межцепочечная дисульфидная связь с образованием молекулы F(ab')<sub>2</sub>. «Фрагмент F(ab')<sub>2</sub>» содержит две легкие цепи и две тяжелые цепи, содержащие участок константного участка между доменами CH1 и CH2, так что между двумя тяжелыми цепями образуется межцепочечная дисульфидная связь. Таким образом, фрагмент F(ab')<sub>2</sub> состоит из двух фрагментов Fab', которые 25 удерживаются вместе за счет дисульфидной связи между двумя тяжелыми цепями.

**[000135]** «Участок Fv» содержит переменные области как тяжелой, так и легкой цепей, но не содержит константных участков.

**[000136]** «Одноцепочечный переменный фрагмент» («scFv», также называемый «одноцепочечным антителом») относится к молекулам Fv, в которых переменные 30 области тяжелой и легкой цепей соединены с помощью гибкого линкера с образованием одной полипептидной цепи, которая образует антигенсвязывающий

участок. См. заявку РСТ WO88/01649 и патенты США №№ 4946778 и 5260203, полное раскрытие которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

**[000137]** «Бивалентная антигенсвязывающая молекула» содержит два антигенсвязывающих сайта. В некоторых случаях два связывающих сайта имеют 5 одинаковые антигенные специфичности. Бивалентные антигенсвязывающие молекулы могут быть биспецифичными. «Мультиспецифичная антигенсвязывающая молекула» представляет собой молекулу, которая нацелена на более чем один антиген или эпитоп. «Биспецифичная», «двойственно-специфичная» или «бифункциональная» антигенсвязывающая молекула представляет собой гибридную антигенсвязывающую 10 молекулу или антитело, соответственно, содержащие два различных антигенсвязывающих сайта. Два связывающих сайта биспецифичной антигенсвязывающей молекулы будут связываться с двумя различными эпитопами, которые могут находиться на одних и тех же или различных белковых мишенях.

**[000138]** Считается, что антигенсвязывающая молекула «специфично связывает» 15 ее антиген-мишень, когда константа диссоциации ( $K_d$ ) составляет  $\sim 1 \times 10^{-7}$  М. Антигенсвязывающая молекула специфично связывает антиген с «высокой аффинностью», когда  $K_d$  составляет  $1-5 \times 10^{-9}$  М и с «очень высокой аффинностью», когда  $K_d$  составляет  $1-5 \times 10^{-10}$  М. В одном варианте реализации антигенсвязывающая молекула характеризуется  $K_d 10^{-9}$  М. В одном варианте реализации скорость 20 диссоциации составляет  $< 1 \times 10^{-5}$ . В других вариантах реализации антигенсвязывающие молекулы будут связываться с CLL-1 человека с  $K_d$ , составляющей от приблизительно  $10^{-7}$  М до  $10^{-13}$  М, и в еще одном варианте реализации антигенсвязывающие молекулы будут связываться с  $K_d$ , составляющей  $1,0-5 \times 10^{-10}$ .

**[000139]** В некоторых вариантах реализации антитело или антигенсвязывающие 25 молекулы согласно настоящему изобретению специфично связывают CLL-1 (например, hCLL-1). В некоторых вариантах реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающая молекула согласно настоящему изобретению связывает CLL-1 человека с  $K_D$ , составляющей менее чем  $1 \times 10^{-6}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-7}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-8}$  М или менее чем  $1 \times 10^{-9}$  М. В одном конкретном варианте реализации антитело 30 против CLL-1 или антигенсвязывающие молекулы связывают CLL-1 человека с  $K_D$ , составляющей менее чем  $1 \times 10^{-7}$  М. В другом варианте реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающие молекулы связывают CLL-1 человека с  $K_D$ ,

составляющей менее чем  $1 \times 10^{-8}$  М. В некоторых вариантах реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающие молекулы связывают CLL-1 человека с  $K_D$ , составляющей приблизительно  $1 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $2 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $3 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $4 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $5 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $6 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $7 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $8 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $9 \times 10^{-7}$  М, приблизительно  $1 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $2 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $3 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $4 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $5 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $6 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $7 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $8 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $9 \times 10^{-8}$  М, приблизительно  $1 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $2 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $3 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $4 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $5 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $6 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $7 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $8 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $9 \times 10^{-9}$  М, приблизительно  $1 \times 10^{-10}$  М или приблизительно  $5 \times 10^{-10}$  М. В некоторых вариантах реализации  $K_D$  рассчитывают как отношение  $k_{off}/k_{on}$ , и  $k_{on}$  и  $k_{off}$  определяют с применением моновалентного антитела, такого как фрагмент Fab, как измерено, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием технологии VIAcore®. В других вариантах реализации  $K_D$  рассчитывают как отношение  $k_{off}/k_{on}$ , и  $k_{on}$  и  $k_{off}$  определяют с применением бивалентного антитела, такого как фрагмент Fab, как измерено, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием технологии VIAcore®.

**[000140]** В других вариантах реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающая молекула связывает CLL-1-Fc человека с  $K_D$ , составляющей менее чем  $1 \times 10^{-9}$  М, менее чем  $3 \times 10^{-9}$  М, менее чем  $5 \times 10^{-9}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-10}$  М, менее чем  $3 \times 10^{-10}$  М или менее чем  $5 \times 10^{-10}$  М. В других вариантах реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающие молекулы связывают CLL-1-Fc яванского макака с  $K_D$ , составляющей менее чем  $1 \times 10^{-5}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-6}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-7}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-8}$  М, менее чем  $1 \times 10^{-9}$  М или менее чем  $1 \times 10^{-10}$  М.

**[000141]** В некоторых вариантах реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающая молекула связывает CLL-1 человека с константой скорости ассоциации ( $k_{on}$ ), составляющей менее чем  $1 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $2 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $3 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $4 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $5 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $6 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $7 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $8 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $9 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $1 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $2 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $3 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $4 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем  $6 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , менее чем

7 x 10<sup>-5</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 8 x 10<sup>-5</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 9 x 10<sup>-5</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 1 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 2 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 3 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 4 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 5 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 6 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 7 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 8 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 9 x 10<sup>-6</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup> или менее чем 1 x 10<sup>-7</sup> M<sup>-1</sup> c<sup>-1</sup>. В некоторых вариантах реализации k<sub>on</sub> определяют с применением моновалентного антитела, такого как фрагмент Fab, как измерено, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием технологии VIAcore<sup>®</sup>. В других вариантах реализации k<sub>on</sub> определяют с применением бивалентного антитела, как измерено, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием технологии VIAcore<sup>®</sup>.

**[000142]** В некоторых вариантах реализации антитело против CLL-1 или антигенсвязывающая молекула связывает CLL-1 человека с константой скорости диссоциации (k<sub>off</sub>), составляющей менее чем 1 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 2 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 3 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 4 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 5 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 6 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 7 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 8 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 9 x 10<sup>-2</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 1 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 2 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 3 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 4 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 5 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 6 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 7 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 8 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 9 x 10<sup>-3</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 1 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 2 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 3 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 4 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 5 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 6 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 7 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 8 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 9 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>, менее чем 1 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup> или менее чем 5 x 10<sup>-4</sup> c<sup>-1</sup>. В некоторых вариантах реализации k<sub>off</sub> определяют с применением моновалентного антитела, такого как фрагмент Fab, как измерено, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием технологии VIAcore<sup>®</sup>. В других вариантах реализации k<sub>off</sub> определяют с применением бивалентного антитела, как измерено, например, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием технологии VIAcore<sup>®</sup>.

**[000143]** Антигенсвязывающая молекула называется «селективной», когда она связывается с одной мишенью более прочно, чем со второй мишенью.

**[000144]** Термин «антитело» относится к интактному иммуноглобулину любого изоформа или его фрагменту, который может конкурировать с интактным антителом за специфичное связывание с антигеном-мишенью, и включает, например, химерные, гуманизированные, полностью человеческие и биспецифичные антитела. «Антитело»

представляет собой вид антигенсвязывающей молекулы, как определено в настоящем описании. Интактное антитело обычно содержит по меньшей мере две полноразмерные тяжелые цепи и две полноразмерные легкие цепи, но в некоторых случаях может содержать меньшее количество цепей, как то природные антитела верблюдовых, которые могут содержать только тяжелые цепи. Антитела могут быть получены исключительно из одного источника или могут быть химерными, то есть различные участки антитела могут быть получены из двух разных антител, как описано ниже. Антигенсвязывающие молекулы, антитела или связывающие фрагменты могут быть получены в гибридомах, с помощью технологии рекомбинантных ДНК или путем ферментативного или химического расщепления интактных антител. Если не указано иное, термин «антитело» включает, помимо антител, содержащих две полноразмерные тяжелые цепи и две полноразмерные легкие цепи, их производные, варианты, фрагменты и мутантные варианты, примеры которых описаны ниже. Кроме того, если явно не исключено, антитела включают моноклональные антитела, биспецифичные антитела, миниантитела, доменные антитела, синтетические антитела (иногда упоминаемые в настоящем описании как «миметики антител»), химерные антитела, гуманизированные антитела, антитела человека, слитые антитела (иногда упоминаемые в настоящем описании как «конъюгаты антител») и их фрагменты, соответственно.

**[000145]** Вариабельные области обычно демонстрируют одну и ту же общую структуру, содержащую относительно консервативные каркасные участки (FR), соединенные тремя гипервариабельными участками (то есть «CDR»). CDR из двух цепей каждой пары обычно выравниваются каркасными участками, которые могут обеспечить связывание с конкретным эпитопом. Вариабельные области как легкой, так и тяжелой цепи обычно содержат домены, от N-конца к C-концу, FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Принято, что участки CDR в тяжелой цепи обычно называются CDR1, CDR2 и CDR3 HC. Участки CDR в легкой цепи обычно называются CDR1, CDR2 и CDR3 LC. Отнесение аминокислот к каждому домену обычно соответствует определениям по Кабату, Чотиа или определению AbM.

**[000146]** Термин «нумерация по Кабату» и похожие термины являются признанными в данной области техники и относятся к системе нумерации аминокислотных остатков в вариабельных областях тяжелой и легкой цепей антитела или его антигенсвязывающем участке. В некоторых аспектах CDR антитела могут быть



определены в соответствии с системой нумерации по Кабату (см., например, Kabat EA & Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190: 382-391 и Kabat EA *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Согласно системе нумерации по Кабату, CDR  
5 внутри молекулы тяжелой цепи антитела обычно расположены в позициях аминокислот 31-35, которые необязательно могут включать одну или две дополнительные аминокислоты после 35 (называемые в схеме нумерации по Кабату как 35А и 35В), (CDR1), позициях аминокислот 50-65 (CDR2) и позициях аминокислот 95-102 (CDR3). Согласно системе нумерации по Кабату, CDR внутри молекулы легкой  
10 цепи антитела обычно расположены в позициях аминокислот 24-34 (CDR1), позициях аминокислот 50-56 (CDR2) и позициях аминокислот 89-97 (CDR3). В конкретном варианте реализации CDR антител согласно настоящему описанию были определены в соответствии со схемой нумерации по Кабату.

**[000147]** В некоторых аспектах CDR антитела могут быть определены в  
15 соответствии со схемой нумерации по Чотиа, которая относится к расположению структурных петель иммуноглобулинов (см., например, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B *et al.*, (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C *et al.*, (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A *et al.*, (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82 и патент США № 7709226). Как правило, при использовании системы нумерации по  
20 Кабату петля CDR-H1 согласно нумерации по Чотиа расположена в позициях аминокислот 26-32, 33 или 34 тяжелой цепи, петля CDR-H2 согласно нумерации по Чотиа расположена в позициях аминокислот 52-56 тяжелой цепи и петля CDR-H3 согласно нумерации по Чотиа расположена в позициях аминокислот 95-102 тяжелой цепи, тогда как петля CDR-L1 согласно нумерации по Чотиа расположена в позициях  
25 аминокислот 24-34 легкой цепи, петля CDR-L2 согласно нумерации по Чотиа расположена в позициях аминокислот 50-56 легкой цепи и петля CDR-L3 согласно нумерации по Чотиа расположена в позициях аминокислот 89-97 легкой цепи. Конец петли CDR-H1 согласно нумерации по Чотиа при нумерации с использованием системы нумерации по Кабату варьирует между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это  
30 объясняется тем, что схема нумерации по Кабату предполагает размещение вставок в позициях H35А и H35В; если и 35А, и 35В отсутствуют, петля заканчивается в позиции 32; если присутствует только 35А, петля заканчивается в позиции 33; если присутствуют и 35А, и 35В, петля заканчивается в позиции 34).

**[000148]** В конкретном варианте реализации CDR антител согласно настоящему описанию были определены в соответствии со схемой нумерации по Чотиа.

**[000149]** Ряд определений CDR является общепринятым: нумерация по Кабату, нумерация по Чотиа, нумерация AbM или контактная нумерация. Определение AbM представляет собой компромисс между первыми двумя и используется программным обеспечением для моделирования антител AbM от Oxford Molecular. Контактное определение основано на анализе имеющихся комплексных кристаллических структур.

**Таблица 2: Нумерация CDR**

<b>Петля</b>	<b>Кабат</b>	<b>AbM</b>	<b>Чотиа</b>	<b>Контактная</b>
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B (Нумерация по Кабату)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
H1	H31--H35 (Нумерация по Чотиа)	H26--H35	H26--H32	H30--H35
H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

10 **[000150]** В настоящем описании термин «тяжелая цепь», используемый в отношении антитела, может относиться к любому отдельному типу, например, альфа ( $\alpha$ ), дельта ( $\delta$ ), эpsilon ( $\epsilon$ ), гамма ( $\gamma$ ) и мю ( $\mu$ ), основанному на аминокислотной последовательности константного домена, что обуславливает наличие классов антител IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, соответственно, включая подклассы IgG, например, IgG<sub>1</sub>,  
15 IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> и IgG<sub>4</sub>.

**[000151]** В настоящем описании термин «легкая цепь», используемый в отношении антитела, может относиться к любому отдельному типу, например, каппа ( $\kappa$ ) или лямбда ( $\lambda$ ), основанному на аминокислотной последовательности константных доменов. Аминокислотные последовательности легкой цепи хорошо известны в

данной области техники. В конкретных вариантах реализации легкая цепь представляет собой легкую цепь человека.

**[000152]** Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к участку легкой и/или тяжелой цепей антитела, как правило, содержащему приблизительно от 120 до 130 аминокислот из N-концевой последовательности в тяжелой цепи и приблизительно от 100 до 110 аминокислот из N-концевой последовательности в легкой цепи. Вариабельная область антитела обычно определяет специфичность конкретного антитела к его мишени.

**[000153]** Вариабельность неравномерно распределена по вариабельным доменам антител или антигенсвязывающих молекул; она сосредоточена в субдоменах каждой из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей. Эти субдомены называются «гипервариабельными участками» или «участками, определяющими комплементарность» (CDR), как описано далее в настоящем описании. Более консервативные (то есть не гипервариабельные) участки вариабельных доменов называются «каркасными» участками (FRM или FR), и они обеспечивают каркас для шести CDR в трехмерном пространстве с образованием антигенсвязывающей поверхности. Каждый из вариабельных доменов природных тяжелых и легких цепей содержит четыре участка FRM (FR1, FR2, FR3 и FR4), в основном принимающих конфигурацию  $\beta$ -листа, соединенных тремя гипервариабельными участками, которые образуют петли, соединяющие структуру  $\beta$ -листа и в некоторых случаях образующие ее часть. Гипервариабельные участки в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости за счет FRM и, вместе с гипервариабельными участками из другой цепи, способствуют образованию антигенсвязывающего сайта (см. Kabat *et al.*, как описано далее в настоящем описании).

**[000154]** Как правило, CDR образуют структуру петли, которая может быть классифицирована как каноническая структура. Термин «каноническая структура» относится к конформации главной цепи, которую принимают антигенсвязывающие петли (CDR). С помощью сравнительных структурных исследований было обнаружено, что пять из шести антигенсвязывающих петель имеют лишь ограниченный набор доступных конформаций. Каждая каноническая структура может быть охарактеризована торсионными углами полипептидного остова. Таким образом, соответствующие петли разных антител могут иметь очень похожие трехмерные

структуры, несмотря на высокую вариабельность аминокислотных последовательностей в большинстве участков петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia *et al.*, Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800). Кроме того, существует взаимосвязь между принятой структурой  
5 петли и аминокислотными последовательностями ее окружения. Конформация конкретного канонического класса определяется длиной петли и аминокислотными остатками, находящимися в ключевых положениях внутри петли, а также внутри консервативного каркаса (то есть вне петли). Таким образом, отнесение к конкретному каноническому классу может быть основано на присутствии этих ключевых  
10 аминокислотных остатков.

**[000155]** Термин «каноническая структура» также может включать учет особенностей, касающихся линейной последовательности антитела, например, как в классификации по Кабату (Kabat *et al.*, см. в настоящем описании). Схема (система) нумерации по Кабату представляет собой широко принятый стандарт для  
15 единообразной нумерации аминокислотных остатков вариабельного домена антитела и является предпочтительной схемой, применяемой в соответствии с настоящим изобретением, что также упоминается в тексте настоящего описания. Дополнительный учет структурных особенностей также может применяться для определения канонической структуры антитела. Например, различия, которые полностью не  
20 отражены в нумерации по Кабату, могут быть описаны с помощью системы нумерации по Чотиа *et al.* и/или выявлены посредством других методов, например, кристаллографии и двух- или трехмерного компьютерного моделирования. Соответственно, данная последовательность антитела может быть отнесена к каноническому классу, который позволяет, помимо прочего, идентифицировать  
25 соответствующие блоки последовательностей (например, при необходимости включения в библиотеку множества канонических структур). Нумерация по Кабату аминокислотных последовательностей антител и учет структурных особенностей, описанных Чотиа *et al.* (см. в настоящем описании), и их применения для рассмотрения канонических аспектов структуры антител описаны в литературе. Структуры  
30 субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны в данной области техники. Обзор структуры антител см. в публикации *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow *et al.*, 1988.

**[000156]** CDR3 легкой цепи и, особенно, CDR3 тяжелой цепи могут составлять наиболее важные детерминанты для связывания антигена внутри переменных областей легкой и тяжелой цепей. В некоторых конструкциях антител CDR3 тяжелой цепи, по-видимому, составляет основную область контакта между антигеном и антителом. Схемы отбора *in vitro*, согласно которым меняют только CDR3, могут применяться для изменения связывающих свойств антитела или для определения остатков, участвующих в связывании антигена. Следовательно, CDR3, как правило, является самым большим источником молекулярного разнообразия в связывающем сайте антитела. НЗ, например, может составлять всего два аминокислотных остатка или более чем 26 аминокислот.

**[000157]** В настоящем описании термины «константный участок» и «константный домен» являются взаимозаменяемыми и имеют значение, общепринятое в данной области техники. Константный участок представляет собой участок антитела, например, С-концевой участок легкой и/или тяжелой цепи, который непосредственно не участвует в связывании антитела с антигеном, но который может выполнять различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Константный участок молекулы иммуноглобулина обычно содержит более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с переменным доменом иммуноглобулина.

**[000158]** «Аффинность связывания» в общем относится к силе совокупных нековалентных взаимодействий между отдельным сайтом связывания молекулы (например, антитела) и ее партнером по связыванию (например, антигеном). Если не указано иное, в настоящем описании «аффинность связывания» относится к истинной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары связывания (например, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X для ее партнера Y может в общем быть представлена с помощью константы диссоциации ( $K_D$ ). Аффинность может быть измерена и/или выражена рядом способов, известных в данной области техники, включающих, но не ограничивающихся перечисленными, равновесную константу диссоциации ( $K_D$ ) и равновесную константу ассоциации ( $K_A$ ).  $K_D$  рассчитывают из отношения  $k_{off}/k_{on}$ , тогда как  $K_A$  рассчитывают из отношения  $k_{on}/k_{off}$ .  $k_{on}$  относится к константе скорости ассоциации, например, антитела и антигена, а  $k_{off}$  относится к диссоциации, например, антитела и антигена.  $k_{on}$  и  $k_{off}$  могут быть

определены с помощью способов, известных специалисту в данной области техники, таких как анализы VIAcore® или KinExA.

**[000159]** Термин «нейтрализация» относится к антигенсвязывающей молекуле, scFv или антителу, соответственно, которые связываются с лигандом и предотвращают или снижают биологический эффект этого лиганда. Это может быть достигнуто, например, путем непосредственного блокирования сайта связывания на лиганде или путем связывания с лигандом и изменения способности лиганда к связыванию посредством косвенных путей (таких как структурные или энергетические изменения в лиганде). В некоторых вариантах реализации указанный термин может также обозначать антигенсвязывающую молекулу, которая предотвращает выполнение биологической функции белка, с которым она связывается.

**[000160]** Термин «мишень» или «антиген» относится к молекуле или участку молекулы, способным быть связанными антигенсвязывающей молекулой. В некоторых вариантах реализации мишень может содержать один или более эпитопов.

**[000161]** Термин «конкурировать» в контексте антигенсвязывающих молекул, которые конкурируют за один и тот же эпитоп, означает конкуренцию между антигенсвязывающими молекулами, как определено посредством анализа, в котором исследуемая антигенсвязывающая молекула (например, антитело или его иммунологически функциональный фрагмент) предотвращает или ингибирует (например, уменьшает) специфичное связывание эталонной антигенсвязывающей молекулы с антигеном. Многочисленные типы конкурентных анализов связывания могут применяться для определения того, конкурирует ли одна антигенсвязывающая молекула с другой, например: твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (RIA), твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (EIA), конкурентный сэндвич-анализ (Stahli *et al.*, 1983, *Methods in Enzymology* 9:242-253); твердофазный прямой EIA с образованием авидин-биотинового комплекса (Kirkland *et al.*, 1986, *J. Immunol.* 137:3614-3619), твердофазный прямой анализ с применением метки, твердофазный прямой сэндвич-анализ с применением метки (Harlow and Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); твердофазный прямой RIA с применением I-125 в качестве метки (Morel *et al.*, 1988, *Molec. Immunol.* 25:7-15); твердофазный прямой EIA с образованием авидин-

биотинового комплекса (Cheung, *et al.*, 1990, *Virology* 176:546-552) и прямой RIA с применением метки (Moldenhauer *et al.*, 1990, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82).

**[000162]** В настоящем описании термин «эпитоп» относится к локализованному участку антигена, с которым антитело может специфично связываться. Эпитоп может представлять собой, например, смежные аминокислоты полипептида (линейный или смежный эпитоп), или эпитоп может, например, быть образован двумя или более несмежными участками полипептида или полипептидов (конформационный, нелинейный, прерывистый или несмежный эпитоп). В некоторых вариантах реализации эпитоп, с которым связывается антитело, может быть определен посредством, например, ЯМР-спектроскопии, кристаллографических исследований методом дифракции рентгеновских лучей, анализов ELISA, обмена водорода/дейтерия в сочетании с масс-спектрометрией (например, жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением), сканирующих анализов олигопептидов, основанных на использовании массива данных, и/или картирования с применением мутагенеза (например, картирования с применением сайт-направленного мутагенеза). Для кристаллографии методом дифракции рентгеновских лучей кристаллизация может быть выполнена с применением любого способа, известного в данной области техники (например, Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303). Кристаллы антитело:антиген могут быть исследованы с применением хорошо известных методов дифракции рентгеновских лучей, и структуры могут быть уточнены с использованием компьютерного программного обеспечения, такого как X-PLOR (Yale University, 1992, компания-поставщик Molecular Simulations, Inc.; см., например, *Meth Enzymol* (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; U.S. 2004/0014194) и BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323). Исследования в участка картирования с применением мутагенеза могут быть выполнены любым способом, известным специалисту в данной области техники. См., например, Champe M *et al.*, (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394 и Cunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085 для описания методов мутагенеза, включая методы аланин-сканирующего мутагенеза.

[000163] В настоящем описании термины «метка» или «меченый» относятся к включению детектируемого маркера, например, путем введения радиоактивно меченной аминокислоты или присоединения к полипептиду фрагментов биотина, которые можно детектировать с применением меченого авидина (например, стрептавидина, содержащего флуоресцентную метку или имеющего ферментативную активность, которые можно детектировать с помощью оптических или колориметрических методов). В некоторых вариантах реализации метка или маркер также могут быть терапевтическими. Различные способы введения метки в полипептиды и гликопротеины известны и могут применяться в данной области техники.

### СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ

[000164] При применении адоптивной иммунотерапии интактные Т-клетки могут быть (i) взяты у пациента, (ii) генетически сконструированы для экспрессии химерного рецептора антигена (CAR), который связывается с по меньшей мере одним опухолевым антигеном, (iii) подвергнуты экспансии *ex vivo* с получением более многочисленной популяции сконструированных Т-клеток и (iv) повторно введены пациенту. См., например, патенты США №№ 7741465 и 6319494, Eshhar *et al.* (Cancer Immunol, см. выше); Krause *et al.* (см. выше); Finney *et al.* (см. выше). После того, как сконструированные Т-клетки повторно вводят пациенту, они опосредуют иммунный ответ против клеток, экспрессирующих опухолевый антиген. См., например, Krause *et al.*, J. Exp. Med., Volume 188, No. 4, 1998 (619-626). Этот иммунный ответ включает секрецию Т-клетками ИЛ-2 и других цитокинов, клональную экспансию Т-клеток, распознающих опухолевый антиген, и опосредованное Т-клетками специфичное уничтожение клеток-мишеней. См. Hombach *et al.*, Journal of Immun. 167: 6123-6131 (2001).

[000165] Термин «лимфоцит» в настоящем описании включает натуральные киллеры (NK), Т-клетки или В-клетки. NK-клетки представляют собой тип цитотоксических (клеточно-токсических) лимфоцитов, который является основным компонентом врожденной иммунной системы. NK-клетки отторгают опухоли и инфицированные вирусами клетки. Они функционируют посредством процесса апоптоза, или запрограммированной гибели клеток. Они названы «натуральными киллерами», поскольку они не требуют активации для уничтожения клеток. Т-клетки



играют важную роль в клеточном иммунитете (без участия антител). Их Т-клеточные рецепторы (TCR) дифференцируют сами клетки от лимфоцитов других типов. Тимус, специализированный орган иммунной системы, в первую очередь отвечает за созревание Т-клеток. Существует шесть типов Т-клеток, а именно: Т-хелперы (например, клетки CD4+), цитотоксические Т-клетки (также известные как ТС, цитотоксические Т-лимфоциты, CTL, Т-киллеры, цитолитические Т-клетки, Т-клетки CD8+ или Т-клетки-киллеры), Т-клетки памяти ((i) стволовые клетки памяти T<sub>SCM</sub>, такие как интактные клетки, представляют собой CD45RO-, CCR7+, CD45RA+, CD62L+ (L-селектин), CD27+, CD28+ и IL-7Rα+, но они также экспрессируют большие количества CD95, IL-2Rβ, CXCR3 и LFA-1 и демонстрируют многочисленные функциональные признаки, характерные для клеток памяти); (ii) центральные клетки памяти T<sub>CM</sub> экспрессируют L-селектин и CCR7, они секретируют ИЛ-2, но не ИФНγ или ИЛ-4 и (iii) эффекторные клетки памяти T<sub>EM</sub>, однако, не экспрессируют L-селектин или CCR7, но вырабатывают эффекторные цитокины, такие как ИФНγ и ИЛ-4), регуляторные Т-клетки (Tregs, супрессорные Т-клетки или регуляторные Т-клетки CD4+CD25+), Т-клетки-натуральные киллеры (NKT) и Т-клетки гамма-дельта. С другой стороны, В-клетки играют главную роль в функционировании гуморального иммунитета (с участием антител). Они вырабатывают антитела и антигены и выполняют роль антигенпрезентирующих клеток (АПК) и превращаются в В-клетки памяти после активации посредством взаимодействия с антигеном. У млекопитающих незрелые В-клетки образуются в костном мозге, от которого происходит их название.

**[000166]** Термин «генно-инженерный» или «конструированный» относится к способу модификации генома клетки, включающему, но не ограничивающемуся перечисленными, удаление кодирующего или некодирующего участка или его части или вставку кодирующего участка или его части. В некоторых вариантах реализации модифицированная клетка представляет собой лимфоцит, например, Т-клетку, которая может быть получена либо от пациента, либо от донора. Клетка может быть модифицирована для экспрессии экзогенной конструкции, такой как, например, химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR), которую внедряют в геном клетки.

**[000167]** «Иммунный ответ» относится к действию клеток иммунной системы (например, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, натуральных киллеров (NK), макрофагов, эозинофилов, тучных клеток, дендритных клеток и нейтрофилов) и растворимых

макромолекул, вырабатываемых любой из этих клеток или печени (включая АТ, цитокины и комплемент), которое приводит к избирательному нацеливанию, связыванию, повреждению, разрушению и/или выведению из организма позвоночного инвазивных патогенов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковых или  
5 других аномальных клеток, или, в случае аутоиммунного процесса или патологического воспаления, нормальных клеток или тканей человека.

**[000168]** Термин «иммуноterapia» относится к лечению субъекта, пораженного заболеванием или подверженного риску заражения заболеванием или страдающего рецидивом заболевания, с применением способа, включающего индукцию, усиление,  
10 подавление или иную модификацию иммунного ответа. Примеры иммунотерапии включают, но не ограничиваются перечисленными, виды Т-клеточной терапии. Т-клеточная терапия может включать адоптивную Т-клеточную терапию, иммуноterapia с применением лимфоцитов, инфильтрующих опухоль (ТИЛ), аутологичную клеточную терапию, терапию с применением аутологичных  
15 конструированных клеток (eACT) и аллогенную трансплантацию Т-клеток. Однако специалист в данной области техники должен признать, что раскрытые в настоящем описании способы модификации повышают эффективность любой терапии с применением трансплантируемых Т-клеток. Примеры Т-клеточной терапии описаны в патентных публикациях США №№ 2014/0154228 и 2002/0006409, патенте США №  
20 5728388 и международной публикации № WO 2008/081035.

**[000169]** Т-клетки, применяемые для иммунотерапии, могут быть получены из любого источника, известного в данной области техники. Например, Т-клетки могут быть получены путем дифференцировки *in vitro* из популяции гемопоэтических  
25 стволовых клеток, или Т-клетки могут быть получены от субъекта. Т-клетки могут быть получены, например, из мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), костного мозга, ткани лимфатических узлов, пуповинной крови, ткани тимуса, ткани из очага инфекции, асцита, плеврального экссудата, ткани селезенки и опухолей. Помимо этого, Т-клетки могут быть получены из одной или более линий Т-клеток, доступных в данной области техники. Т-клетки также могут быть получены из  
30 единицы крови, собранной у субъекта, с применением любого количества методик, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение с помощью фиколла (FICOLL™) и/или аферез. Дополнительные способы выделения Т-клеток для

Т-клеточной терапии раскрыты в патентной публикации США № 2013/0287748, полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

**[000170]** Термин «терапия с применением аутологичных конструированных клеток», который может быть сокращен как «eACT™», также известный как  
5  
адоптивный перенос клеток, представляет собой способ, посредством которого собственные Т-клетки пациента собирают и впоследствии генетически изменяют для распознавания и нацеливания на один или более антигенов, экспрессируемых на  
10  
поверхности одной или более конкретных опухолевых клеток или клеток злокачественных новообразований. Т-клетки могут быть сконструированы для экспрессии, например, химерных рецепторов антигенов (CAR) или Т-клеточного рецептора (TCR). CAR-положительные (+) Т-клетки сконструированы для экспрессии  
внеклеточного одноцепочечного варибельного фрагмента (scFv) со специфичностью к конкретному опухолевому антигену, связанного с внутриклеточной сигнальной  
15  
частью, содержащего по меньшей мере один костимулирующий домен и по меньшей мере один домен активации. Костимулирующий домен может быть получен из (или соответствовать), например, CD28, а домен активации может быть получен из (или соответствовать), например, CD3 дзета. В некоторых вариантах реализации CAR сконструирован таким образом, что он содержит два, три, четыре или более  
20  
костимулирующих доменов.

**[000171]** Термин «аутологичный» относится к любому материалу, полученному от того же индивидуума, которому он впоследствии будет введен повторно. Например, способ терапии с применением аутологичных конструированных клеток (eACT™) согласно настоящему описанию включает забор у пациента лимфоцитов, которые  
25  
затем конструируют для экспрессии, например, конструкции CAR и далее вводят обратно тому же пациенту.

**[000172]** Термин «аллогенный» относится к любому материалу, полученному от одного индивидуума, который затем вводят другому индивидууму того же вида, например, при аллогенной трансплантации Т-клеток.

**[000173]** Следовательно, в некоторых аспектах настоящее изобретение включает  
30  
способ лечения или предотвращения состояния, связанного с нежелательным и/или повышенным содержанием CLL-1 у пациента, включающий введение нуждающемуся

в этом пациенту эффективного количества по меньшей мере одной выделенной антигенсвязывающей молекулы, CAR или TCR, раскрытых в настоящем описании.

**[000174]** Предложены способы лечения заболеваний или расстройств, включая рак. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к индукции опосредованного Т-клетками иммунного ответа у субъекта, включающей введение субъекту эффективного количества конструированных иммунных клеток согласно настоящей заявке. В некоторых вариантах реализации опосредованный Т-клетками иммунный ответ направлен против клетки-мишени или клеток-мишеней. В некоторых вариантах реализации конструированная иммунная клетка содержит химерный рецептор антигена (CAR) или Т-клеточный рецептор (TCR). В некоторых вариантах реализации клетка-мишень представляет собой опухолевую клетку. В некоторых аспектах настоящее изобретение включает способ лечения или предотвращения злокачественного новообразования, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества по меньшей мере одной выделенной антигенсвязывающей молекулы согласно настоящему описанию. В некоторых аспектах настоящее изобретение включает способ лечения или предотвращения злокачественного новообразования, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества по меньшей мере одной иммунной клетки, где иммунная клетка содержит по меньшей мере один химерный рецептор антигена, Т-клеточный рецептор и/или выделенную антигенсвязывающую молекулу согласно настоящему описанию.

**[000175]** В некоторых аспектах настоящее изобретение включает фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одну антигенсвязывающую молекулу согласно настоящему описанию и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция дополнительно содержит дополнительный активный агент.

**[000176]** Антигенсвязывающие молекулы, CAR, TCR, иммунные клетки и им подобные согласно настоящему изобретению могут применяться для лечения миелоидных заболеваний, включая, но не ограничиваясь перечисленными, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), ювенильный миеломоноцитарный лейкоз,

атипичный хронический миелоидный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ), острый монобластный лейкоз, острый эритроидный лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, миелодиспластический синдром (МДС), миелопролиферативное заболевание, миелоидное новообразование, миелоидную саркому, бластическое плазмцитоеидное дендритное клеточное новообразование (BPDCN) или их комбинации. Дополнительные заболевания включают воспалительные и/или аутоиммунные заболевания, такие как ревматоидный артрит, псориаз, аллергия, астма, болезнь Крона, ВЗК, СРК, фибромиалгия, мастоцитоз и целиакия.

5  
10 [000177] Следует понимать, что целевые дозы клеток CAR<sup>+</sup>/CAR-T<sup>+</sup>/TCR<sup>+</sup> могут составлять  $1 \times 10^6$  -  $2 \times 10^{10}$  клеток/кг, предпочтительно  $2 \times 10^6$  клеток/кг, более предпочтительно. Следует понимать, что дозы выше и ниже этого диапазона могут подходить для некоторых субъектов, и при необходимости подходящие величины доз могут быть определены лечащим врачом. Кроме того, в соответствии с настоящим изобретением может быть предусмотрено многократное введение клеток.

15 [000178] Также предложены способы уменьшения размера опухоли у субъекта, включающие введение субъекту сконструированной клетки согласно настоящему изобретению, где указанная клетка содержит химерный рецептор антигена, Т-клеточный рецептор или химерный рецептор антигена на основе Т-клеточного рецептора, содержащие антигенсвязывающую молекулу, которая связывается с антигеном опухоли. В некоторых вариантах реализации субъект имеет солидную опухоль или злокачественное заболевание крови, такое как лимфома или лейкоз. В некоторых вариантах реализации сконструированную клетку доставляют в ложе опухоли. В некоторых вариантах реализации рак присутствует в костном мозге субъекта. В некоторых вариантах реализации сконструированные клетки представляют собой аутологичные Т-клетки. В некоторых вариантах реализации сконструированные клетки представляют собой аллогенные Т-клетки. В некоторых вариантах реализации сконструированные клетки представляют собой гетерологичные Т-клетки. В некоторых вариантах реализации сконструированные клетки согласно настоящей заявке подвергают трансфекции или трансдукции *in vivo*. В других вариантах реализации сконструированные клетки подвергают трансфекции или трансдукции *ex vivo*. В настоящем описании термин «клетка *in vitro*» относится к любой клетке, культивируемой *ex vivo*. В частности, клетка *in vitro* может включать Т-клетку.

**[000179]** Способы могут дополнительно включать введение одного или более химиотерапевтических агентов. В некоторых вариантах реализации химиотерапевтический агент представляет собой антилимфоцитарный (прекондиционирующий) химиотерапевтический агент. Предпочтительные схемы

5 лечения с целью preconditionирования, как и соответствующие предпочтительные биомаркеры, описаны в предварительных заявках на патент США 62/262143 и 62/167750, полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки. В них описаны, например, способы кондиционирования пациента, нуждающегося в Т-клеточной терапии, включающие введение пациенту

10 предпочтительных установленных доз циклофосфида (от 200 мг/м<sup>2</sup>/сутки до 2000 мг/м<sup>2</sup>/сутки) и установленных доз флударабина (от 20 мг/м<sup>2</sup>/сутки до 900 мг/м<sup>2</sup>/сутки). Предпочтительная схема введения включает лечение пациента, включающее ежедневное введение пациенту приблизительно 500 мг/м<sup>2</sup>/сутки циклофосфида и приблизительно 60 мг/м<sup>2</sup>/сутки флударабина в течение трех дней с последующим

15 введением пациенту терапевтически эффективного количества сконструированных Т-клеток.

**[000180]** В других вариантах реализации антигенсвязывающую молекулу, трансдуцированные (или иным образом сконструированные) клетки (такие как CAR или TCR) и химиотерапевтический агент вводят в количестве каждого, эффективном для

20 лечения заболевания или состояния у субъекта.

**[000181]** В некоторых вариантах реализации композиции, содержащие экспрессирующие CAR иммунные эффекторские клетки, раскрытые в настоящем описании, могут быть введены совместно с любым количеством химиотерапевтических агентов. Примеры химиотерапевтических агентов включают

25 алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (Цитоксан (CYTOXAN<sup>TM</sup>)); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метилмеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтилтиофосфорамид, триэтилтиофосфорамид и триметилломеламиновая

30 смола; производные азотистого иприта, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, мехлорэтамин оксида гидрохлорид, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацил мустард; производные нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин,

фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномицины, актиномицин, антрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиروмицин, пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-ФУ); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, 5-ФУ; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митоган, трилостан; средства для восполнения дефицита фолиевой кислоты, такие как фолиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамида гликозид; аминоклевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатрексат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльформитин; эллиптина ацетат; этоглуцид; галлия нитрат; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK®; разоксан; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ara-C»); циклофосфамид; тиотепу; таксоиды, например, паклитаксел (Таксол (TAXOL™), Bristol-Myers Squibb) и доцетаксел (Таксотер (TAXOTERE®), Rhone-Poulenc Roreg); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; соединения платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навельбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоклутерин; кселоду; ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS2000; дифторметилорнитин (ДМФО); производные ретиноевой кислоты, такие как Таргретин (Targretin™) (бексаротен), Панретин (Panretin™) (алитретиноин); Онтак (ONTAK™) (денилейкин дифтитокс); эсперамицины;

капецитабин и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше. Также в это определение включены антигормональные агенты, действие которых направлено на регуляцию или подавление действия гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (Фарестон (Fareston)); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпорид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше. Также в случае необходимости вводят комбинации химиотерапевтических агентов, включающие, но не ограничивающиеся перечисленными, комбинацию СНОР, то есть циклофосфамид (Цитоксан (Cytosan<sup>®</sup>)), доксорубицин (гидроксидоксорубицин), винкристин (Онковин (Oncovin<sup>®</sup>)) и преднизон.

**[000182]** В некоторых вариантах реализации химиотерапевтический агент вводят одновременно с введением или в течение одной недели после введения конструированной клетки, полипептида или нуклеиновой кислоты. В других вариантах реализации химиотерапевтический агент вводят в период времени от 1 до 4 недель или от 1 недели до 1 месяца, от 1 недели до 2 месяцев, от 1 недели до 3 месяцев, от 1 недели до 6 месяцев, от 1 недели до 9 месяцев или от 1 недели до 12 месяцев после введения конструированной клетки или нуклеиновой кислоты. В других вариантах реализации химиотерапевтический агент вводят по меньшей мере за 1 месяц до введения клетки, полипептида или нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах реализации способы дополнительно включают введение двух или более химиотерапевтических агентов.

**[000183]** Совместно с композициями согласно настоящему описанию могут применяться различные дополнительные терапевтические агенты. Например, потенциально подходящие дополнительные терапевтические агенты включают ингибиторы PD-1, такие как ниволумаб (Опдиво (Opdivo<sup>®</sup>)), пембролизумаб (Кейтруда (Keytruda<sup>®</sup>)), пембролизумаб, пидилизумаб и атезолизумаб.

**[000184]** Дополнительные терапевтические агенты, подходящие для применения в комбинации с настоящим изобретением, включают, но не ограничиваются перечисленными, ибрутиниб (Имбрувика (Imbruvica<sup>®</sup>)), офатумумаб (Арзерра (Arzerra<sup>®</sup>)), ритуксимаб (Ритуксан (Rituxan<sup>®</sup>)), бевацизумаб (Авастин (Avastin<sup>®</sup>)), трастузумаб (Герцептин (Herceptin<sup>®</sup>)), трастузумаб эмтанзин (Кадсила (KADCYLA<sup>®</sup>)),



иматиниб (Гливек (Gleevec<sup>®</sup>)), цетуксимаб (Эрбитукс (Erbix<sup>®</sup>)), панитумумаб (Вектибикс (Vectibix<sup>®</sup>)), катумаксамаб, ибритумомаб, офатумумаб, тозитумомаб, брентуксимаб, алемтузумаб, гемтузумаб, эрлотиниб, гефинитиб, вандетаниб, афатиниб, лапатиниб, нератиниб, акситиниб, маситиниб, пазопаниб, сунитиниб, сорафениб, тоцераниб, лестауртиниб, акситиниб, цедираниб, ленватиниб, нинтеданиб, пазопаниб, регорафениб, семаксаниб, сорафениб, сунитиниб, тивозаниб, тоцераниб, вандетаниб, энтректиниб, кабозантиниб, иматиниб, дазатиниб, нилотиниб, понатиниб, радотиниб, бозутиниб, лестауртиниб, руксолитиниб, пакритиниб, кобиметиниб, селуметиниб, траметиниб, биниметиниб, алектиниб, церитиниб, кризотиниб, афлиберцепт, адипотид, денилейкин дифтитокс, ингибиторы mTOR, такие как эверолимус и темсилолимус, ингибиторы сигнального пути Hedgehog, такие как сонидегиб и висмодегиб, ингибиторы CDK, такие как ингибитор CDK (палбоциклиб).

**[000185]** В дополнительных вариантах реализации композиция, содержащая иммунные клетки, содержащие CAR, может быть введена совместно с противовоспалительным агентом. Противовоспалительные агенты или лекарственные средства включают, но не ограничиваются перечисленными, стероиды и глюкокортикоиды (включая бетаметазон, будесонид, дексаметазон, гидрокортизона ацетат, гидрокортизон, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон, преднизон, триамцинолон), нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), включая аспирин, ибупрофен, напроксен, метотрексат, сульфасалазин, лефлуноמיד, лекарственные средства, подавляющие ФНО, циклофосфамид и микрофенолат. Типовые НПВС включают ибупрофен, напроксен, напроксена натрий, ингибиторы ЦОГ-2 и салилаты. Типовые анальгетики включают ацетаминофен, оксикодон, трамадол или пропексифена гидрохлорид. Типовые глюкокортикоиды включают кортизон, дексаметазон, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон или преднизон. Типовые модификаторы биологического ответа включают молекулы, направленные против маркеров клеточной поверхности (например, CD4, CD5 и т.д.), ингибиторы цитокинов, такие как антагонисты ФНО (например, этанерцепт (Энбрел (ENBREL<sup>®</sup>)), адалимумаб (Хумира (HUMIRA<sup>®</sup>)) и инфликсимаб (Ремикейд (REMICADE<sup>®</sup>)), ингибиторы хемокинов и ингибиторы молекул адгезии. Модификаторы биологического ответа включают моноклональные антитела, а также рекомбинантные формы молекул. Типовые БМАРП включают азатиоприн, циклофосфамид, циклоспорин, метотрексат, пеницилламин, лефлуноמיד,

сульфасалазин, гидроксихлорохин, соединения золота (для перорального (ауранофин) и внутримышечного введения) и миноциклин.

**[000186]** В некоторых вариантах реализации композиции согласно настоящему описанию вводят совместно с цитокином. Термин «цитокин» в настоящем описании относится к белкам, высвобождаемым одной клеточной популяцией, которые действуют на другую клетку в качестве медиаторов межклеточных взаимодействий. Примерами цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. В число цитокинов входят гормоны роста, такие как гормон роста человека, N-метионилированный гормон роста человека и бычий гормон роста; паратиреоидный гормон; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), тиреостимулирующий гормон (ТСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ); фактор роста гепатоцитов (ФРГ); фактор роста фибробластов (ФРФ); пролактин; плацентарный лактоген; ингибирующее вещество Мюллера; гонадотропин-ассоциированный пептид  
15  
мышцы; ингибин; активин; фактор роста эндотелия сосудов; интегрин; тромбопоэтин (ТПО); факторы роста нервной ткани (NGF), такие как NGF-бета; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие факторы роста (ТФР), такие как ТФР-альфа и ТФР-бета; инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (ЭПО); остеоиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон-альфа, -бета и -гамма;  
20  
колониестимулирующие факторы (КСФ), такие как макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ); гранулоцитарно-макрофагальный КСФ (ГМ-КСФ) и гранулоцитарный КСФ (Г-КСФ); интерлейкины (ИЛ), такие как ИЛ-1, ИЛ-1-альфа, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12; ИЛ-15, фактор некроза опухоли, такой как ФНО-альфа или ФНО-бета; и другие  
25  
полипептидные факторы, включая ЛИФ и лиганд Kit (KL). В настоящем описании термин «цитокин» включает белки, полученные из природных источников или из культуры рекомбинантных клеток, и биологически активные эквиваленты цитокинов с нативной последовательностью.

**[000187]** В некоторых аспектах настоящее изобретение включает  
30  
антигенсвязывающую молекулу, которая связывается с CLL-1 с  $K_d$ , составляющей менее 100 пМ. В некоторых вариантах реализации антигенсвязывающая молекула связывается с  $K_d$ , составляющей менее 10 пМ. В других вариантах реализации антигенсвязывающая молекула связывается с  $K_d$ , составляющей менее 5 пМ.



## Способы получения

**[000188]** Для получения полинуклеотидов, полипептидов, векторов, антигенсвязывающих молекул, иммунных клеток, композиций и т. п. согласно настоящему изобретению может применяться множество известных методик.

5 **[000189]** Иммунные клетки согласно настоящему описанию могут быть получены от субъекта, после чего осуществляют их обработку *in vitro* или генетическую модификацию. В некоторых вариантах реализации иммунные клетки включают Т-клетки. Т-клетки могут быть получены из ряда источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), костный мозг, ткань лимфатических узлов, 10 пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань из очага инфекции, асцит, плевральный экссудат, ткань селезенки и опухоли. В некоторых вариантах реализации Т-клетки могут быть получены из единицы крови, собранной у субъекта, с применением любого количества методик, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение с помощью фиколла (FICOLL™). Предпочтительно клетки могут быть 15 получены из циркулирующей крови субъекта путем афереза. Продукт афереза, как правило, содержит лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядросодержащие лейкоциты, эритроциты и тромбоциты. В некоторых вариантах реализации клетки, собранные путем афереза, промывают для удаления фракции плазмы и помещают в подходящий буфер или среду для последующей 20 обработки. Клетки могут быть промыты ФСБ. Следует иметь в виду, что может использоваться стадия промывки, как то с использованием полуавтоматической проточной центрифуги – например, Cobe™ 2991 cell processor, Baxter CytoMate™, или тому подобного. После промывки клетки могут быть ресуспендированы в различных биосовместимых буферах или другом солевом растворе с буфером или без него. В 25 некоторых вариантах реализации нежелательные компоненты образца, полученного путем афереза, могут быть удалены.

**[000190]** В некоторых вариантах реализации Т-клетки выделяют из МКПК путем лизиса красных клеток крови и обеднения моноцитов, например, с помощью центрифугирования в градиенте перколла (PERCOLL™). Конкретная субпопуляция Т-клеток, такая как Т-клетки CD28<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup> и CD45RO<sup>+</sup>, может быть 30 дополнительно выделена с применением методик положительного или отрицательного отбора, известных в данной области техники. Например, обогащение популяции Т-

клеток путем отрицательного отбора может быть выполнено с помощью комбинации антител, нацеленных на поверхностные маркеры, уникальные для отбираемых с помощью отрицательного отбора клеток. Одним из применяемых способов является сортировка и/или отбор клеток с помощью отрицательной магнитной иммунной адгезии или проточной цитометрии с применением коктейля моноклональных антител, нацеленных на маркеры клеточной поверхности, присутствующие на отбираемых с помощью отрицательного отбора клетках. Например, для обогащения клетками CD4<sup>+</sup> с помощью отрицательного отбора коктейль моноклональных антител, как правило, содержит антитела против CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. Также проточная цитометрия и сортировка клеток могут использоваться для выделения целевых популяций клеток для применения согласно настоящему изобретению.

**[000191]** МКПК могут использоваться непосредственно для генетической модификации иммунных клеток (такой как CAR или TCR) с применением способов согласно настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации после выделения МКПК могут быть дополнительно выделены Т-лимфоциты, и как цитотоксические Т-лимфоциты, так и Т-лимфоциты-хелперы могут быть рассортированы с получением субпопуляций интактных Т-клеток, Т-клеток памяти и эффекторных Т-клеток либо до, либо после генетической модификации и/или экспансии.

**[000192]** В некоторых вариантах реализации клетки CD8<sup>+</sup> дополнительно сортируют с получением интактных клеток, центральных клеток памяти и эффекторных клеток путем выявления антигенов клеточной поверхности, которые связаны с каждым из этих типов клеток CD8<sup>+</sup>. В некоторых вариантах реализации экспрессия фенотипических маркеров центральных Т-клеток памяти включает CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 и CD127, и указанные клетки являются отрицательными в отношении гранзима В. В некоторых вариантах реализации центральные Т-клетки памяти представляют собой Т-клетки CD45RO<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>. В некоторых вариантах реализации эффекторные Т-клетки являются отрицательными в отношении CD62L, CCR7, CD28 и CD127 и положительными в отношении гранзима В и перфорины. В некоторых вариантах реализации Т-клетки CD4<sup>+</sup> дополнительно сортируют с получением их субпопуляций. Например, Т-клетки-хелперы CD4<sup>+</sup> могут быть рассортированы с получением интактных клеток, центральных клеток памяти и эффекторных клеток путем выявления популяций клеток, содержащих антигены клеточной поверхности.

**[000193]** Иммуные клетки, такие как Т-клетки, после выделения могут быть подвергнуты генетической модификации с применением известных способов, или может быть проведена активация и экспансия указанных иммунных клеток (или дифференцировка в случае клеток-предшественников) *in vitro*, а затем их генетическая модификация. В другом варианте реализации иммунные клетки, такие как Т-клетки, подвергают генетической модификации химерными рецепторами антигенов согласно настоящему описанию (например, трансдукции вирусным вектором, содержащим одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих CAR) и затем активации и/или экспансии *in vitro*. Способы осуществления активации и экспансии Т-клеток известны в данной области техники и описаны, например, в патенте США № 6905874; патенте США № 6867041; патенте США № 6797514 и публикации РСТ WO2012/079000, полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки. В целом, такие способы включают приведение МКПК или выделенных Т-клеток в контакт со стимулирующей молекулой и костимулирующей молекулой, такими как антитела против CD3 и против CD28, как правило, присоединенные к частице или другой поверхности, в культуральной среде с подходящими цитокинами, такими как ИЛ-2. Антитела против CD3 и против CD28, присоединенные к одной и той же частице, выступают в качестве «суррогатной» антигенпрезентирующей клетки (АПК). Одним из примеров является система Dynabeads<sup>®</sup>, система активатора/стимулятора CD3/CD28 для физиологической активации Т-клеток человека. В других вариантах реализации Т-клетки могут быть подвергнуты активации и стимуляции их пролиферации с помощью питающих клеток и подходящих антител и цитокинов с применением таких способов, как способы, описанные в патенте США № 6040177; патенте США № 5827642 и публикации WO2012129514, полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

**[000194]** Некоторые способы получения конструкций и конструированных иммунных клеток согласно настоящему изобретению описаны в заявке РСТ РСТ/US15/14520, полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки. Дополнительные способы получения конструкций и клеток приведены в предварительной заявке на патент США № 62/244036, полное содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

**[000195]** Следует понимать, что МКПК могут дополнительно включать другие цитотоксические лимфоциты, такие как НК-клетки или НКТ-клетки. Вектор экспрессии, несущий кодирующую последовательность химерного рецептора, раскрытого в настоящем описании, может быть введен в популяцию донорских Т-клеток, НК-клеток или НКТ-клеток человека. Успешно трансдуцированные Т-клетки, несущие вектор экспрессии, могут быть рассортированы с помощью проточной цитометрии для выделения CD3-положительных Т-клеток и затем может быть дополнительно проведено их размножение для увеличения количества этих экспрессирующих CAR Т-клеток наряду с активацией клеток с применением антител против CD3 и ИЛ-2 или других способов, известных в данной области техники, описанных в другой части настоящего описания. Для криоконсервирования экспрессирующих CAR Т-клеток для хранения и/или приготовления для применения у субъекта, являющегося человеком, используют стандартные методики. В одном варианте реализации трансдукцию *in vitro*, культивирование и/или экспансию Т-клеток проводят в отсутствие продуктов, полученных от животных, не являющихся человеком, таких как эмбриональная телячья сыворотка и эмбриональная бычья сыворотка.

**[000196]** Для клонирования полинуклеотидов вектор может быть введен в клетку-хозяина (выделенную клетку-хозяина) для обеспечения репликации самого вектора и, таким образом, увеличения количества копий содержащегося в нем полинуклеотида. Клонирование векторы могут содержать компоненты последовательности, как правило, включающие, но не ограничивающиеся перечисленными, точку начала репликации, промоторные последовательности, последовательности инициации транскрипции, энхансерные последовательности и селективируемые маркеры. Эти элементы могут быть выбраны средним специалистом в данной области техники в зависимости от конкретного случая. Например, точка начала репликации может быть выбрана для обеспечения автономной репликации вектора в клетке-хозяине.

**[000197]** В некоторых вариантах реализации в настоящем описании предложены выделенные клетки-хозяева, содержащие вектор, предложенный в настоящем описании. Клетки-хозяева, содержащие указанный вектор, могут быть пригодны для применения при экспрессии или клонировании полинуклеотида, содержащегося в векторе. Подходящие клетки-хозяева могут включать, но не ограничиваются перечисленными, прокариотические клетки, клетки грибов, дрожжевые клетки или

высшие эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих. Подходящие для этой цели прокариотические клетки включают, но не ограничиваются перечисленными, эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например, Enterobactehaceae, такие как Escherichia, например, E. coli, 5 Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, например, Salmonella typhimurium, Serratia, например, Serratia marcescans, и Shigella, а также Bacilli, такие как B. subtilis и B. licheniformis, Pseudomonas, такие как P. aeruginosa, и Streptomyces.

**[000198]** Вектор может быть введен в клетку-хозяина с применением любых подходящих способов, известных в данной области техники, включая, но не 10 ограничиваясь перечисленными, опосредованную ДЭАЭ-декстраном доставку, метод осаждения фосфатом кальция, опосредованную катионными липидами доставку, опосредованную липосомами трансфекцию, электропорацию, бомбардировку микрочастицами, опосредованную рецептором доставку гена, доставку, опосредованную полилизинном, гистонном, хитозаном и пептидами. Стандартные 15 способы трансфекции и трансформации клеток для экспрессии целевого вектора хорошо известны в данной области техники. В еще одном варианте реализации для генетической модификации донорской популяции иммунных эффекторных клеток может применяться смесь различных векторов экспрессии, где каждый вектор кодирует отличный от других CAR, раскрытый в настоящем описании. Полученные 20 трансдуцированные иммунные эффекторные клетки образуют смешанную популяцию конструированных клеток, где часть конструированных клеток экспрессирует более одного различных CAR.

**[000199]** В одном варианте реализации настоящего изобретения предложен способ хранения генетически конструированных клеток, экспрессирующих CAR или 25 TCR, нацеленных на белок CLL-1. Этот способ включает криоконсервирование иммунных клеток таким образом, что клетки остаются жизнеспособными при оттаивании. Часть иммунных клеток, экспрессирующих указанные CAR, могут быть подвергнуты криоконсервированию с применением способов, известных в данной области техники, для обеспечения постоянного источника таких клеток для 30 последующего лечения пациентов, страдающих от злокачественного новообразования. При необходимости подвергнутые криоконсервированию трансформированные иммунные клетки могут быть разморожены, выращены и может быть проведена их экспансия для увеличения количества таких клеток.



**[000200]** В настоящем описании термин «криоконсервирование» относится к обеспечению сохранности клеток путем охлаждения до отрицательных температур, таких как (как правило) 77 градусов Кельвина, или -196 °С (точка кипения жидкого азота). Криозащитные агенты часто применяют при отрицательных температурах для предотвращения консервированных клеток от повреждения вследствие замораживания при низких температурах или нагревания до комнатной температуры. Агенты для криоконсервирования и оптимальная скорость охлаждения могут защитить клетку от повреждения. Криозащитные агенты, которые могут применяться согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются перечисленными: диметилсульфоксид (ДМСО) (Lovelock & Bishop, Nature (1959); 183: 1394-1395; Ashwood-Smith, Nature (1961); 190: 1204-1205), глицерин, поливинилпирролидин (Rinfret, Ann. N.Y. Acad. Sci.(1960); 85: 576) и полиэтиленгликоль (Sloviter & Ravdin, Nature (1962); 196: 48). Предпочтительная скорость охлаждения составляет 1 ° - 3 °С/минуту.

**[000201]** Термин «по существу чистый» используется для обозначения того, что содержание данного компонента является высоким. Указанный компонент предпочтительно является преобладающим компонентом, присутствующим в композиции. Предпочтительно его содержание составляет более 30%, более 50%, более 75%, более 90% или даже более 95% при определении на основе отношения сухой масса/сухая масса по отношению ко всей рассматриваемой композиции. При очень высоком содержании (например, при содержании более 90%, более 95% и более 99%) компонент можно рассматривать как находящийся в «чистой форме». Биологически активные вещества согласно настоящему изобретению (CAR, TCR, выделенные полипептиды, выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, антигенсвязывающие молекулы, фрагменты) могут быть получены в форме, по существу свободной от одной или более примесей, с которыми указанное вещество может быть связано в других случаях. В случае, если композиция по существу свободна от данной примеси, содержание указанной примеси будет низким (например, при содержании менее 10%, менее 5% или менее 1% на основе отношения сухая масса/сухая масса, указанного выше).

**[000202]** В некоторых вариантах реализации клетки готовят, сначала собирая их из их культуральной среды, а затем осуществляя их промывку и концентрирование в среде и контейнерной системе, подходящих для введения («фармацевтически

приемлемый» носитель) в эффективном для лечения количестве. Подходящие среды для инфузий могут представлять собой любой изотонический состав, как правило, физиологический раствор, Нормосол Р (Normosol™ R) (Abbott) или Плазма-Лит А (Plasma-Lyte™ A) (Baxter), однако также могут применяться 5% декстроза в воде или Рингера лактат. К среде для инфузий может быть добавлен сывороточный альбумин человека.

**[000203]** Требуемое для лечения количество клеток в композиции обычно составляет по меньшей мере 2 клетки (например, подгруппа из по меньшей мере 1 центральной Т-клетки памяти CD8<sup>+</sup> и по меньшей мере 1 Т-клетки-хелпера CD4<sup>+</sup>) или, более часто, более 10<sup>2</sup> клеток и до 10<sup>6</sup>, до 10<sup>8</sup> или 10<sup>9</sup> клеток включительно, и может составлять более 10<sup>10</sup> клеток. Количество клеток будет зависеть от желаемого применения, для которого предназначена композиция, и типа содержащихся в ней клеток. Плотность желаемых клеток, как правило, составляет более 10<sup>6</sup> клеток/мл, и обычно составляет более 10<sup>7</sup> клеток/мл, обычно 10<sup>8</sup> клеток/мл или более. Клинически значимое количество иммунных клеток может быть распределено на несколько инфузий, которые в совокупности составляют или превышают 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup>, 10<sup>11</sup> или 10<sup>12</sup> клеток. В некоторых аспектах настоящего изобретения, в частности, поскольку все введенные посредством инфузии клетки будут перенацелены (перенаправлены) на конкретный антиген-мишень (CLL-1), могут быть введены меньшие количества клеток, в пределах 10<sup>6</sup>/килограмм (10<sup>6</sup>-10<sup>11</sup> на пациента). Средства, содержащие CAR, могут быть многократно введены в дозах, находящихся в пределах этих диапазонов. Клетки могут являться аутологичными, аллогенными или гетерологичными для подвергающегося терапии пациента.

**[000204]** Популяции клеток, экспрессирующих CAR, согласно настоящему изобретению могут быть введены либо отдельно, либо в виде фармацевтической композиции совместно с разбавителями и/или другими компонентами, такими как ИЛ-2 или другие цитокины или популяции клеток. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут содержать популяцию клеток, экспрессирующих CAR или TCR, таких как Т-клетки согласно настоящему описанию, совместно с одним или более фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами. Такие композиции могут содержать буферы, такие как нейтральный забуференный физиологический раствор, забуференный фосфатом физиологический раствор и тому подобное;

углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннит; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион; адьюванты (например, гидроксид алюминия) и консерванты. Композиции согласно настоящему изобретению предпочтительно готовят для внутривенного введения.

**[000205]** Фармацевтические композиции (растворы, суспензии или тому подобное) могут содержать одно или более из следующего: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический раствор; раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые могут служить в качестве растворителя или суспендирующей среды, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или гидросульфит натрия; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как ацетатные, цитратные или фосфатные, и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Препарат для парентерального введения может быть заключен в ампулы, шприцы для однократного применения или флаконы для многократного введения из стекла или пластика. Фармацевтическая композиция для инъекционного введения предпочтительно является стерильной.

**[000206]** Следует понимать, что нежелательные явления могут быть сведены к минимуму путем трансдукции иммунных клеток (содержащих один или более CAR или TCR) суицидным геном. Также может требоваться введение в иммунные клетки индуцибельного «включающего» или «ускоряющего» переключателя. Подходящие методики включают использование индуцибельной каспазы-9 (заявка на патент США 2011/0286980) или тимидинкиназы до, после или во время проведения трансдукции клеток конструкцией CAR согласно настоящему изобретению. Дополнительные способы введения суицидных генов и/или «включающих» переключателей включают технологию TALENS, цинковые пальцы, интерферирующую РНК (RNAi), малую интерферирующую РНК (siRNA), малую шпилечную РНК (shRNA), антисмысловую технологию и другие методики, известные в данной области техники.

**[000207]** Согласно настоящему изобретению в настоящее описание могут быть включены дополнительные методики регуляции с помощью переключателя, относящегося к типу «включатель-выключатель» (on-off) или к другим типам. Эти методики могут включать применение доменов димеризации и факультативных активаторов димеризации таких доменов. Эти методики включают, например, методики, включающие применение систем димеризации FKBP/рапалог в некоторых клетках, описанные в источнике Wu *et al.*, Science 2014 350 (6258), полное содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. Дополнительная технология димеризации описана, например, в источнике Fegan *et al.* Chem. Rev. 2010, 110, 3315-3336, а также патентах США №№ 5830462; 5834266; 5869337 и 6165787, полное содержание которых также включено в настоящее описание посредством ссылки. Дополнительные пары димеризации могут включать циклоспорин-А/циклофилин, рецептор, эстроген/рецептор эстрогена (необязательно с применением тамоксифена), глюкокортикоиды/рецептор глюкокортикоидов, тетрациклин/рецептор тетрациклина, витамин D/рецептор витамина D. Дополнительные примеры технологии димеризации приведены, например, в WO 2014/127261, WO 2015/090229, US 2014/0286987, US2015/0266973, US2016/0046700, патенте США № 8486693, US 2014/0171649 и US 2012/0130076, полное содержание которых также включено в настоящее описание посредством ссылки.

**[000208]** Следует понимать, что описания, используемые в настоящем описании, приведены только в качестве примера и пояснения и не ограничивают заявленное изобретение. В этой заявке использование единственного числа включает множественное число, если специально не указано иное.

**[000209]** Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, предназначены только для организационных целей и не должны истолковываться как ограничивающие описанное. Все документы или части документов, приведенные в настоящей заявке, включая, но не ограничиваясь перечисленными, патенты, заявки на патенты, статьи, книги и научные труды, явным образом полностью включены в настоящее описание посредством ссылки для любой цели. В соответствии с настоящим описанием следующие термины, если не указано иное, следует понимать как имеющие следующие значения:

**[000210]** В настоящей заявке использование «или» означает «и/или», если не указано иное. Кроме того, использование термина «включая», а также других форм, таких как «включает/содержит» и «включенный/содержащийся», не является ограничивающим. Кроме того, такие термины как «элемент» или «компонент»  
5 охватывают как элементы и компоненты, содержащие одну единицу, так и элементы и компоненты, которые содержат более одной субъединицы, если специально не указано иное.

**[000211]** Термин «активность CLL-1» включает любое биологическое действие CLL-1. В некоторых вариантах реализации активность CLL-1 включает способность  
10 CLL-1 взаимодействовать или связываться с субстратом или рецептором.

**[000212]** Термин «полинуклеотид», «нуклеотид» или «нуклеиновая кислота» включает как одноцепочечные, так и двухцепочечные полимеры нуклеотидов. Он предпочтительно включает выделенные полинуклеотиды, нуклеотиды или нуклеиновые кислоты, указанные в настоящем описании. Нуклеотиды, из которых  
15 состоит полинуклеотид, могут представлять собой рибонуклеотиды, или дезоксирибонуклеотиды, или модифицированную форму любого типа нуклеотида. Указанные модификации включают модификации основания, такие как производные бромуридина и инозина, модификации рибозы, такие как 2',3'-дидезоксирибоза, и модификации межнуклеотидных связей, такие как фосфотиоат, фосфородитиоат,  
20 фосфороселеноат, фосфородиселеноат, фосфоранилотиоат, фосфораниладат и фосфорамидат.

**[000213]** Термин «олигонуклеотид» относится к полинуклеотиду, содержащему 200 или менее нуклеотидов. Олигонуклеотиды могут быть одноцепочечными или двухцепочечными, например, для применения при конструировании мутантного гена.  
25 Олигонуклеотиды могут представлять собой смысловые или бессмысловые олигонуклеотиды. Олигонуклеотид может содержать метку, включая радиоактивную метку, флуоресцентную метку, гаптен или антигенную метку для анализа с целью выявления. Олигонуклеотиды могут использоваться, например, в качестве праймеров для ПЦР, праймеров для клонирования или гибридизационных зондов.

**[000214]** Термин «регуляторная последовательность» относится к полинуклеотидной последовательности, которая может оказывать влияние на экспрессию и процессинг кодирующих последовательностей, с которыми она

лигирована. Характер таких регуляторных последовательностей может зависеть от организма-хозяина. В конкретных вариантах реализации регуляторные последовательности для прокариот могут содержать промотор, сайт связывания рибосом и последовательность терминации транскрипции. Например, регуляторные последовательности для эукариот могут содержать промоторы, содержащие один или множество сайтов распознавания для факторов транскрипции, последовательности энхансеров транскрипции, последовательность терминации транскрипции. «Регуляторные последовательности» могут содержать лидерные последовательности (сигнальные пептиды) и/или последовательности партнеров по слиянию.

10 **[000215]** В некоторых вариантах реализации полинуклеотид согласно настоящему изобретению, кодирующий CAR или TCR, может дополнительно содержать лидерную последовательность или лидерный пептид (также упоминаемый в настоящем описании как «сигнальный пептид»). В некоторых вариантах реализации лидерный пептид содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере  
15 приблизительно на 75%, по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 85%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по меньшей мере приблизительно на 95%, по меньшей мере приблизительно на 96%, по меньшей мере приблизительно на 97%, по меньшей мере приблизительно на 98%, по меньшей мере приблизительно на 99% или на 100% идентична аминокислотной последовательности  
20 MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 144). В некоторых вариантах реализации лидерный пептид содержит аминокислотную последовательность, представляющую собой SEQ ID NO: 144.

**[000216]** В настоящем описании термин «функционально связанный» означает, что компоненты, к которым применяется этот термин, взаимосвязаны таким образом,  
25 что это позволяет им выполнять присущие им функции в подходящих условиях.

**[000217]** Термин «вектор» означает любую молекулу или объект (например, нуклеиновую кислоту, плазмиду, бактериофаг или вирус), используемые для переноса информации, кодирующей белок, в клетку-хозяина. Термин «вектор экспрессии» или «конструкция экспрессии» относится к вектору, который подходит для трансформации  
30 клетки-хозяина и содержит последовательности нуклеиновых кислот, которые направляют и/или регулируют (совместно с клеткой-хозяином) экспрессию одного или более гетерологичных кодирующих участков, функционально связанных с ними.

Конструкция экспрессии может содержать, но не ограничивается перечисленными, последовательности, которые влияют на транскрипцию, трансляцию или регулируют их, и, если присутствуют интроны, влияют на сплайсинг РНК кодирующего участка, функционально связанного с ними.

5 **[000218]** Термин «клетка-хозяин» относится к клетке, которая была трансформирована или способна подвергаться трансформации с применением последовательности нуклеиновой кислоты и вследствие этого экспрессирует целевой ген. Термин включает потомство родительской клетки независимо от того, идентично ли потомство исходной родительской клетке по морфологии или набору генов, при  
10 условию, что присутствует целевой ген.

**[000219]** Термин «трансформация» относится к изменению генетических характеристик клетки, и клетка является трансформированной, если она была модифицирована таким образом, что содержит новую ДНК или РНК. Например, клетка является трансформированной в случае, когда она генетически модифицирована по  
15 отношению к ее нативному состоянию путем введения нового генетического материала посредством трансфекции, трансдукции или других методик. После трансфекции или трансдукции трансформирующая ДНК может рекомбинировать с ДНК клетки путем физического встраивания в хромосому клетки, или может временно удерживаться в качестве эписомального элемента, не подвергаясь репликации, или  
20 может независимо реплицироваться в качестве плазмиды. Считается, что клетка «стабильно трансформирована», когда трансформирующаяся ДНК реплицируется при делении клетки.

**[000220]** Термин «трансфекция» относится к поглощению чужеродной или экзогенной ДНК клеткой. Ряд способов трансфекции хорошо известен в данной  
25 области техники и раскрыт в настоящем описании. См., например, Graham *et al.*, 1973, *Virology* 52:456; Sambrook *et al.*, 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, выше; Davis *et al.*, 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; Chu *et al.*, 1981, *Gene* 13:197.

**[000221]** Термин «трансдукция» относится к процессу, посредством которого  
30 чужеродную ДНК вводят в клетку с помощью вирусного вектора. См. Jones *et al.*, (1998). *Genetics: principles and analysis*. Boston: Jones & Bartlett Publ.

**[000222]** Термины «полипептид» или «белок» относятся к макромолекуле, содержащей аминокислотную последовательность белка, включая делеции, вставки и/или замены одной или более аминокислот нативной последовательности, и предпочтительно содержащей не более 8 аминокислотных замен. Предпочтительно полипептиды или белки выделяют, как указано в настоящем описании. Термины «полипептид» и «белок» в частности охватывают антигенсвязывающие молекулы CLL-1, антитела или последовательности, которые содержат делеции, вставки и/или замены одной или более аминокислот антигенсвязывающего белка, и предпочтительно содержат не более 8 аминокислотных замен. Термин «фрагмент полипептида» относится к выделенному полипептиду, который содержит аминоконцевую делецию, карбоксиконцевую делецию и/или внутреннюю делецию по сравнению с полноразмерным нативным белком. Такие фрагменты также могут содержать модифицированные аминокислоты по сравнению с нативным белком. Подходящие фрагменты полипептидов включают иммунологически функциональные фрагменты антигенсвязывающих молекул. Подходящие фрагменты включают, но не ограничиваются перечисленными, один или более участков CDR, переменные домены тяжелой и/или легкой цепи, часть других частей цепи антитела и тому подобное.

**[000223]** Термин «выделенный» означает (i) свободный от по меньшей мере некоторых других белков, совместно с которыми он обычно встречается, (ii) по существу свободный от других белков из того же источника, например, из того же вида, (iii) отделенный от по меньшей мере приблизительно 50 процентов полинуклеотидов, липидов, углеводов или других веществ, с которыми он связан в природе, (iv) функционально связанный (путем ковалентного или нековалентного взаимодействия) с полипептидом, с которым он не связан в природе, или (v) не встречается в природе.

**[000224]** «Вариант» полипептида (например, антигенсвязывающей молекулы или антитела) содержит аминокислотную последовательность, причем в указанной аминокислотной последовательности один или более аминокислотных остатков вставлены, исключены и/или заменены относительно другой полипептидной последовательности. Варианты включают гибридные белки.

**[000225]** Термин «идентичность» относится к сходству последовательностей двух или более молекул полипептида или двух или более молекул нуклеиновой кислоты,



что определяют путем выравнивания и сравнения последовательностей. «Процент идентичности» означает процент идентичных остатков между аминокислотами или нуклеотидами в сравниваемых молекулах и рассчитывается на основе размера наименьшей из сравниваемых молекул. Для этих вычислений пропуски (gaps) в  
5 выравниваемых участках (при наличии) предпочтительно вводят с помощью конкретной математической модели или компьютерной программы (то есть «алгоритма»).

**[000226]** Для расчета процента идентичности сравниваемые последовательности, как правило, выравнивают таким образом, чтобы получить наибольшее совпадение  
10 между последовательностями. Одним из примеров компьютерной программы, которая может использоваться для определения процента идентичности, является пакет программ GCG, который включает GAP (Dereux *et al.*, 1984, Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.). Компьютерный алгоритм GAP используется для выравнивания двух полипептидов или  
15 полинуклеотидов, для которых необходимо определить процент идентичности последовательностей. Последовательности выравнивают для получения оптимального совпадения их соответствующих аминокислот или нуклеотидов («длина совпадения», определяемая алгоритмом). В некоторых вариантах реализации алгоритм использует также стандартную матрицу сравнения (см. Dayhoff *et al.*, 1978, Atlas of Protein  
20 Sequence and Structure 5:345-352 для матрицы сравнения PAM 250; Henikoff *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 для матрицы сравнения BLOSUM 62).

**[000227]** В настоящем описании двадцать стандартных (например, встречающихся в природе) аминокислот и их сокращенных обозначений используются  
25 обычным образом. См. источник Immunology - A Synthesis (2nd Edition, Golub and Gren, Eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991)), содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки для любой цели. Стереоизомеры (например, D-аминокислоты) двадцати стандартных аминокислот, не встречающиеся в природе аминокислоты, такие как альфа,альфа-дизамещенные аминокислоты, N-алкиламинокислоты, молочная кислота и другие нестандартные аминокислоты, также  
30 могут быть подходящими компонентами для полипептидов согласно настоящему изобретению. Примеры нестандартных аминокислот включают: 4-гидроксипролин, гамма-карбоксиглутамат, эпсилон-N,N,N-триметиллизин, е-N-ацетиллизин, О-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формилметионин, 3-метилгистидин, 5-гидроксилизин,

сигма-N-метиларгинин и другие подобные аминокислоты и иминокислоты (например, 4-гидроксипролин). В используемой в настоящем описании форме представления полипептидов направление влево представляет собой направление к аминоконцу, а направление вправо представляет собой направление к карбоксиконцу в соответствии со стандартным использованием и общепринятыми правилами.

**[000228]** Консервативные аминокислотные замены могут охватывать не встречающиеся в природе аминокислотные остатки, которые, как правило, вводят путем химического синтеза пептидов, а не путем синтеза в биологических системах. Они включают пептидомиметики и другие обращенные и инвертированные формы фрагментов аминокислот. Встречающиеся в природе остатки могут быть разделены на классы на основании общих свойств боковой цепи:

- a) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- b) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- c) кислые: Asp, Glu;
- d) основные: His, Lys, Arg;
- e) остатки, которые влияют на ориентацию цепей: Gly, Pro; и
- f) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

**[000229]** Например, неконсервативные замены могут включать замену членом одного из этих классов члена из другого класса. Такие замещенные остатки могут быть введены, например, в участки антитела человека, гомологичные антителам других видов, или в негомологичные участки молекулы. Типичные аминокислотные замены приведены в таблице 3.

**Таблица 3**

<b><u>Исходный остаток</u></b>	<b><u>Типичные замены</u></b>	<b><u>Предпочтительные замены</u></b>
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn

Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, норлейцин	Leu
Leu	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-диаминомасляная кислота, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, норлейцин	Leu

**[000230]** Термин «производное» относится к молекуле, которая содержит химическую модификацию, отличную от вставки, делеции или замены аминокислот (или нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах реализации производные содержат ковалентные модификации, включая, но не ограничиваясь перечисленными, образование химических связей с полимерами, липидами или другими органическими или неорганическими фрагментами. В некоторых вариантах реализации химически модифицированная антигенсвязывающая молекула может иметь больший период полувыведения из кровотока, чем антигенсвязывающая молекула, которая не подвергалась химической модификации. В некоторых вариантах реализации производное антигенсвязывающей молекулы подвергают ковалентной модификации с добавлением одного или более водорастворимых полимеров, включая, но не ограничиваясь перечисленными, полиэтиленгликоль, полиоксиэтиленгликоль или полипропиленгликоль.

**[000231]** Аналоги пептидов обычно применяют в фармацевтической промышленности в качестве непептидных лекарственных средств со свойствами, аналогичными свойствам матричного пептида. Эти типы непептидных соединений называют «миметиками пептидов» или «пептидомиметиками». Источники: Fauchere, J., Adv. Drug Res., 15:29 (1986); Veber & Freidinger, TINS, p.392 (1985) и Evans *et al.*, J. Med. Chem., 30:1229 (1987), содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки для любой цели.

**[000232]** «Терапевтически эффективное количество», «эффективная доза», «эффективное количество» или «терапевтически эффективная доза» терапевтического агента, например, конструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR, представляет собой любое количество, которое при применении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим агентом защищает субъекта от начала заболевания или способствует обращению развития заболевания, о чем свидетельствует снижение тяжести симптомов заболевания, увеличение частоты и продолжительности периодов без проявления симптомов заболевания или предотвращение ухудшения или инвалидизации вследствие вызванных заболеванием поражений. Способность терапевтического агента способствовать обращению развития заболевания может быть оценена с применением различных способов, известных практикующему специалисту, таких как оценка у людей в процессе клинических испытаний, у животных в модельных системах, прогнозирующих эффективность у людей, или оценка путем определения активности агента в анализах *in vitro*.

**[000233]** Термины «пациент» и «субъект» используются взаимозаменяемо и включают субъектов – людей и животных, не являющихся людьми, а также лиц с официально диагностированными расстройствами, лиц без официально установленных расстройств, лиц, получающих медицинскую помощь, лиц, подверженных риску развития расстройств и так далее.

**[000234]** Термин «лечить» и «лечение» включает терапевтическое лечение, профилактическое лечение и применение, при котором снижается риск того, что у субъекта будет развиваться расстройство, или другой фактор риска. Лечение не требует полного устранения расстройства и охватывает варианты реализации, при которых происходит уменьшение симптомов или основных факторов риска. Термин «предотвращать» не требует 100% исключения возможности события. Скорее, это

означает, что вероятность возникновения события снижена при применении соединения или способа.

**[000235]** Для получения рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов и культивирования и трансформации тканей могут применяться стандартные методики (например, электропорация, липофекция). Ферментативные реакции и методики очистки могут быть выполнены в соответствии с инструкциями производителя, или  
5 обычным образом, принятым в данной области техники, или согласно настоящему описанию. Вышеупомянутые методики и процедуры, как правило, могут быть выполнены в соответствии с общепринятыми способами, хорошо известными в данной  
10 области техники и описанными в различных общих и более конкретных источниках, цитируемых и обсуждаемых в настоящем описании. См., например, источник Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки для любой цели.

#### **ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ**

**[000236]** Все публикации, патенты и патентные заявки, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящее описание посредством ссылки в той же степени, как если бы для каждой отдельной публикации, патента или патентной заявки было специально и независимо указано, что они включены посредством ссылки. Однако  
20 указание источника в настоящем описании не должно быть истолковано как подтверждение того, что такой источник является частью предшествующего уровня техники по отношению к настоящему изобретению. В тех случаях, когда любое из определений или терминов, представленных в источниках, включенных посредством ссылки, отличается от терминов и обсуждений, представленных в настоящем  
25 описании, предпочтение следует отдавать терминам и определениям, представленным в настоящем описании.

**[000237]** Предполагается, что приведенное выше описание является достаточным для того, чтобы обеспечить специалисту в данной области техники возможность осуществить настоящее изобретение. В приведенном выше описании и примерах  
30 подробно описаны некоторые предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения и описан лучший вариант, предложенный авторами изобретения. Однако следует понимать, что независимо от того, насколько подробно приведенное выше

изложено в тексте, настоящее изобретение может быть осуществлено различными способами и должно быть истолковано в соответствии с прилагаемой формулой изобретения и любыми ее эквивалентами.

5 [000238] Следующие примеры, включая проведенные эксперименты и полученные результаты, приведены только для иллюстративных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие настоящее изобретение.

### ПРИМЕР 1

10 [000239] Определение активности CAR CLL-1 путем электропорации мРНК в МКПК человека. Плазмиды, кодирующие промотор T7, конструкцию CAR и стабилизирующую последовательность бета-глобина, линейаризовали путем расщепления 10 мкг ДНК с помощью EcoRI и BamHI (NEB) в течение ночи. Затем ДНК подвергали расщеплению под действием протеиназы K (Thermo Fisher™, 600 ед./мл) в течение 2 часов при 50 °С, очищали с помощью смеси фенол/хлороформ и осаждали путем добавления ацетата натрия и двух объемов этанола. Затем осадки сушили, ресуспендировали в воде, не содержащей ДНКаз/РНКаз, и проводили количественное определение. Затем 1 мкг линейной ДНК использовали для проведения транскрипции *in vitro* с помощью mMESSAGE mMACHINE T7 Ultra (ThermoFisher™) в соответствии с инструкциями производителя. РНК дополнительно очищали с помощью набора MEGAClear (ThermoFisher™) в соответствии с инструкциями производителя и  
15 количественно определяли с помощью NanoDrop™. Целостность мРНК оценивали на основании подвижности в агарозном геле.

20 [000240] Различные линии раковых клеток оценивали в отношении экспрессии CLL-1. Клетки Namalwa (ATCC), U937 (ATCC), HL-60 (ATCC), EoL-1 (Sigma), KG1a (ATCC) и MV4;11 (ATCC) окрашивали антителом против CLL-1, конъюгированным сPE (BD Pharmingen™), в буфере для окрашивания (BD Pharmingen™) в течение 30 минут при 4 °С. Затем клетки промывали и ресуспендировали в буфере для окрашивания с пропидия иодидом (BD Pharmingen™), после чего проводили сбор данных. Затем образцы подвергали проточной цитометрии и проводили анализ данных и построение гистограмм с помощью FlowJo™. Результаты для экспрессии CLL-1  
30 показаны на ФИГУРЕ 1.

[000241] МКПК выделяли из лейкопаков (leukopaks) (Hemacare™) здоровых доноров путем центрифугирования в градиенте плотности фиколл-пака в соответствии

с инструкциями производителя. МКПК стимулировали с помощью ОКТ3 (50 нг/мл, Miltenyi Biotec™) в среде R10 + ИЛ-2 (300 МЕ/мл, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). Через семь дней после стимуляции Т-клетки дважды промывали в Opti-MEM™ (Thermo Fisher Scientific™) и ресуспендировали в конечной концентрации  $2,5 \times 10^7$  клеток/мл в Opti-MEM. Для электропорации использовали 10 мкг мРНК. Электропорацию клеток проводили с помощью системы Gemini X2 (Harvard Apparatus ВТХ™), настроенной для подачи одного импульса 400 В в течение 0,5 мс в кюветах с зазором 2 мм (Harvard Apparatus ВТХ™). Клетки сразу переносили в среду R10 + ИЛ-2 и оставляли для восстановления. Концентрацию клеток поддерживали в диапазоне  $0,5-2,0 \times 10^6$  клеток/мл, затем их использовали для определения активности.

**[000242]** Через шесть часов после электропорации мРНК Т-клетки окрашивали с помощью биотинилированного белка L (Thermo Scientific™) в буфере для окрашивания (BD Pharmingen™) в течение 30 минут при 4 °С. Затем клетки промывали и окрашивали с помощью реагента PE Streptavidin (BD Pharmingen™) в буфере для окрашивания в течение 30 минут при 4 °С. Затем клетки промывали и ресуспендировали в буфере для окрашивания с пропидия иодидом (BD Pharmingen™), после чего проводили сбор данных. Результаты по выявлению CAR показаны на ФИГУРЕ 2.

**[000243]** Через 6 часов после электропорации мРНК эффекторные клетки культивировали совместно с клетками-мишенями при отношении Э:М 1:1 в среде R10. Исследуемые линии клеток включали Namalwa, U937, HL-60, EoL-1, KG1a и MV4;11. После совместного культивирования в течение шестнадцати часов супернатанты анализировали с помощью Luminex (EMD Millipore) в соответствии с инструкциями производителя и оценивали жизнеспособность клеток-мишеней с помощью проточного цитометрического анализа захвата пропидия иодида (ПИ). Результаты анализа высвобождения цитокинов показаны на ФИГУРЕ 3. Результаты анализа цитолитической активности показаны на ФИГУРЕ 4 и ФИГУРЕ 5.

## ПРИМЕР 2

**[000244]** Определение активности CAR CLL-1 путем лентивирусной трансдукции МКПК человека. Для получения лентивирусных супернатантов использовали лентивирусный вектор переноса третьего поколения, содержащий различные конструкции CAR CLL-1, в сочетании со смесью ViraPower™ Lentiviral Packaging Mix

(Life Technologies™). Кратко, смесь для трансфекции получали путем смешивания 15 мкг ДНК и 22,5 мкл полиэтиленимина (Polysciences™, 1 мг/мл) в 600 мкл среды OptiMEM™. Полученную смесь инкубировали в течение 5 минут при комнатной температуре. Одновременно клетки 293Т (АТСС) подвергали трипсинолизу, подсчитывали, и клетки общим количеством  $10 \times 10^6$  высевали во флакон Т75 со смесью для трансфекции. Через три дня после трансфекции супернатанты собирали и фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и хранили при -80 °С до использования.

**[000245]** МКПК выделяли из лейкопаков (Nemacare™) здоровых доноров путем центрифугирования в градиенте плотности фиколл-пака в соответствии с инструкциями производителя. МКПК стимулировали с помощью ОКТ3 (50 нг/мл, Miltenyi Biotec™) в среде R10 + ИЛ-2 (300 МЕ/мл, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). Через сорок восемь часов после стимуляции клетки подвергали трансдукции с помощью лентивируса при множественности заражения (MOI) = 10. Концентрацию клеток поддерживали в диапазоне  $0,5-2,0 \times 10^6$  клеток/мл, затем их использовали для определения активности.

**[000246]** На 12 день после стимуляции Т-клетки окрашивали с помощью биотинилированного белка L (Thermo Scientific™) в буфере для окрашивания (BD Pharmingen™) в течение 30 минут при 4 °С. Затем клетки промывали и окрашивали с помощью реагента PE Streptavidin (BD Pharmingen™) в буфере для окрашивания в течение 30 минут при 4 °С. Затем клетки промывали и ресуспендировали в буфере для окрашивания с пропидия иодидом (BD Pharmingen™), после чего проводили сбор данных. Результаты по выявлению CAR показаны на ФИГУРЕ 6.

**[000247]** Через 12 дней после стимуляции Т-клеток эффекторные клетки культивировали с клетками-мишенями при отношении Э:М 1:1 в среде R10. Исследуемые линии клеток включали Namalwa, U937, HL-60, EoL-1, KG1a и MV4;11. После совместного культивирования в течение 16 часов супернатанты анализировали с помощью Luminex (EMD Millipore™) в соответствии с инструкциями производителя и оценивали жизнеспособность клеток-мишеней с помощью проточного цитометрического анализа захвата пропидия иодида (ПИ). Результаты анализа высвобождения цитокинов показаны на ФИГУРЕ 7. Результаты анализа цитолитической активности показаны на ФИГУРЕ 8.



### ПРИМЕР 3

**[000248]** В этом исследовании использовали самок мышей Jackson NSG (NOD.Cg-*Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup>/SzJ*) в возрасте 5-6 недель. Мыши получали облученный корм для грызунов Harlan 2918.15 и воду *ad libitum*. Мышей размещали в одноразовой вентилируемой клетке Innovive™ с подстилкой из стержней початков кукурузы внутри чистых зон Biobubble®, которые обеспечивают поступление воздуха, фильтрованного с помощью Н.Е.Р.А, в ограниченное пространство при полной замене воздуха 100 раз в час. Все воздействия, определение массы тела и измерение опухолей проводили в ограниченном пространстве. Условия среды поддерживали в диапазоне температур 70 ° ± 2 °F и диапазоне влажности 30-70%. Все процедуры проводили в соответствии со всеми законами, положениями и рекомендациями Национальных институтов здравоохранения (НИН) и с разрешения Комитета по содержанию и использованию животных Molecular Imaging, Inc.

#### Получение опухолевых клеток

**[000249]** Клетки U937-luc получали в растворе для хранения Lifer®. Клетки центрифугировали при 200 об./мин в течение 8 минут при 4 °C, супернатант удаляли аспирацией и осадок ресуспендировали пипетированием в охлажденном фосфатно-солевом буфере Дульбекко (DPBS). Аликвоту гомогенной суспензии клеток разбавляли в растворе трипанового синего и подсчитывали клетки с помощью автоматического счетчика клеток Luna™. Суспензию клеток центрифугировали при 200 об./мин в течение 8 минут при 4 °C. Супернатант удаляли аспирацией и осадок клеток ресуспендировали в охлажденной бессывороточной среде для получения конечной концентрации вытесняющих трипановый синий клеток/мл. Во время имплантации суспензию клеток помещали на водный лед. В 0 день исследуемым животным имплантировали 1,00E+06 клеток в объеме 0,2 мл путем внутривенного введения через латеральную хвостовую вену с использованием иглы 27 калибра по шкале Гейдж и шприца.

#### Получение Т-клеток, экспрессирующих CAR

**[000250]** Т-клетки согласно настоящему изобретению получали, замораживали на сухом льду и хранили в жидком азоте. В день лечения полученные криопробирки вынимали из криохранилища и размораживали на водяной бане при 37 °C. Для каждой группы полученные Т-клетки объединяли в одной конической пробирке объемом 50 мл с нагретой RPMI 1640 с добавлением 10% ЭБС. Криопробирки промывали нагретой

RPMI 1640 с 10% ЭБС для минимизации потери клеток до достижения общего объема 50 мл в каждой конической пробирке. Каждую коническую пробирку объемом 50 мл центрифугировали при 200 об./мин в течение 8 минут при 4 °С. Супернатанты удаляли аспирацией и осадки клеток ресуспендировали в 10 мл DPBS комнатной температуры.

- 5 Аликвоту гомогенной суспензии клеток разбавляли в растворе трипанового синего и подсчитывали клетки вручную с помощью гемоцитометра. Суспензии клеток повторно центрифугировали при 200 об./мин в течение 8 минут при 4 °С. Супернатанты удаляли аспирацией и осадки клеток ресуспендировали в DPBS комнатной температуры для получения требуемых конечных концентраций. Во время введения препарата
- 10 суспензию клеток помещали на водный лед.

### **Биолюминесцентная визуализация**

**[000251]** Биолюминесцентную визуализацию *in vivo* (BLI) проводили с помощью системы IVIS Spectrum (Perkin Elmer, Hopkinton, MA). Одновременно получали изображения до 5 животных под газовой анестезией с применением ~1-2% изофлурана.

- 15 Каждой мыши вводили 150 мг/кг (15 мг/мл) D-люциферина путем в/в инъекции, и через 10 минут после инъекции получали изображения в положении лежа на животе, затем в положении лежа на спине. Использовали значения биннинга ПЗС-матрицы от больших до малых, а время экспозиции регулировали (от 2 секунд до 2 минут) для получения по меньшей мере нескольких сотен импульсов на изображение, а также во избежание
- 20 насыщения ПЗС-матрицы. Изображения BLI собирали на 3, 11, 18 и 25 дни. Изображения анализировали с помощью программного обеспечения Living Image версии 4.5 (Perkin Elmer, Hopkinton, MA). Области интереса (ROI) фиксированного объема всего тела помещали на изображения в положении лежа на животе и в
- 25 положении лежа на спине для каждого отдельного животного и помечали на основании идентификации животных. Для облегчения анализа между группами для всех ROI рассчитывали и экспортировали общее излучение, выраженное в фотонах/сек (p/s). Для оценки опухолевой нагрузки всего тела суммировали ROI изображений в положении лежа на животе и в положении лежа на спине.

## Лечение

[000252] Все мыши были разделены на исследуемые группы на основании полученной методом биолюминесцентной визуализации (BLI) оценки опухолевой нагрузки всего тела. Мышей распределяли таким образом, чтобы средняя опухолевая нагрузка для всех групп находилась в пределах 10% от общей средней опухолевой нагрузки для исследуемой популяции. Лечение с применением Т-клеток, экспрессирующих CAR, начинали на 3 день. Все мышам вводили фиксированный объем, составляющий 0,2 мл. Результаты приведены на фигуре 10.

## Оценка побочных эффектов

10 [000253] У всех животных определяли клинические признаки по меньшей мере один раз в день. Животных взвешивали в каждый день лечения. Конкретные значения массы тела регистрировали 3 раза в неделю.

[000254] Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими последовательностями.

15 [000255] ДНК внеклеточного, трансмембранного, внутриклеточного доменов CD28T

СТTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGG  
CAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCA  
TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTC  
20 TGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTTAGATCCAAAAG  
AAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCG  
CCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAG  
AGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC (SEQ ID NO. 1)

[000256] АК внеклеточного, трансмембранного, внутриклеточного доменов CD28T

25 LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLL  
VTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA  
AYRS (SEQ ID NO. 2)

[000257] ДНК внеклеточного домена CD28T

30 СТTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGG  
CAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCCTGGTCCATCCAAGCCA  
(SEQ ID NO. 3)

- [000258] АК внеклеточного домена CD28T  
LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP (SEQ ID NO. 4)
- [000259] ДНК трансмембранного домена CD28  
5 TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTC  
TGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTT (SEQ ID NO. 5)
- [000260] АК трансмембранного домена CD28  
FWVLVVVGGV LACYLLVTV AFIFWV (SEQ ID NO. 6)
- [000261] ДНК внутриклеточного домена CD28  
10 AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATG  
ACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTAC  
GCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC (SEQ ID NO. 7)
- [000262] АК внутриклеточного домена CD28  
RSKRSLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID  
NO. 8)
- 15 [000263] ДНК CD3 дзета  
AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAG  
GGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGA  
AGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGA  
TGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTAT  
20 AATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAAT  
AGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT  
TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCT  
CTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 9)
- [000264] АК CD3 дзета  
25 RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM  
GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLY  
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 10)
- [000265] АК варианта CD3 дзета

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM  
GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY  
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 146)

**[000266]** ДНК CD28

5 ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGT  
AACGGTACCATCATTACGTGAAAGGTAACACCTGTGTCCTTCT  
CCCCTCTCCCCGGGCCATCAAAGCCC (SEQ ID NO. 11)

**[000267]** АК CD28

10 IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP (SEQ ID NO.  
12)

**[000268]** ДНК внеклеточного и трансмембранного доменов CD8

15 GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTAC  
CAGTGTCTTGCCGGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGC  
CACCTACCCCAGCTCCTACCATCGCTTCACAGCCTCTGTCCCTGCG  
CCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTTACATACCAG  
AGGACTGGATTTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGC  
CGGAACCTGCGGGCGTACTCCTGCTGTCCCTGGTCATCACGCTCTAT  
TGTAATCACAGGAAC (SEQ ID NO. 13)

**[000269]** АК внеклеточного и трансмембранного доменов CD8

20 AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA  
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN  
(SEQ ID NO. 14)

**[000270]** ДНК НС для клона 24С1

25 CAGGTGCAGCTGCAGGAATCCGGACCGGGGCTGGTGAAGCCCAG  
CGAGACTCTGAGTCTCACGTGTACAGTTTCTGGAGGTAGCATTAG  
CTCCTACTATTGGTCATGGATAAGGCAGCCCCCGGGAAGGGATT  
GGAATGGATCGGCTATATTTACTACAGTGGGAGCACCAATTACAA  
CCCCTCACTGAAGTCTAGAGTTACAATCAGCGTTGACACCTCAA  
GAATCAGTTCAGTTTGAAATTGTCTAGCGTCACAGCAGCTGATAC  
30 AGCCGTCTATTATTGTGTTTCTCTGGTCTATTGCGGTGGGGATTGT

TACAGTGGCTTTGACTATTGGGGGCAGGGTACTCTGGTTACAGTT  
TCTTCC (SEQ ID NO. 15)

[000271] АК НС для клона 24C1 (CDR отмечены подчеркиванием)

5 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGY  
IYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVSL  
VYCGGDCYSGFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO. 16)

[000272] АК CDR1 НС для клона 24C1: GGSISSY (SEQ ID NO. 17)

10 [000273] АК CDR2 НС для клона 24C1: YYSGS (SEQ ID NO. 18)

[000274] АК CDR3 НС для клона 24C1: LVYCGGDCYS GFDY (SEQ ID NO. 19)

[000275] ДНК LC для клона 24C1

15 GACATCCAGTTGACACAGAGCCCGAGTTCCTTGTCCGCCTCCGTC  
GGGGATAGAGTGTCAATTTACCTGTCAGGCCTCTCAGGATATTAAT  
AACTTTCTGAATTGGTATCAGCAAAAGCCCGGAAAGGCACCCAAG  
CTGTTGATTTACGACGCCAGTAACCTGGAGACAGGCGTGCCCTCC  
CGGTTTAGTGGTAGCGGAAGCGGTACGGATTTTACSTTTACTATC  
AGCTCTCTCCAACCCGAAGACATTGCAACCTACTATTGTCAACAA  
20 TATGGAAACCTGCSTTTTACATTTGGCGGCGGCACCAAGGTGGAG  
ATTAAGCGG (SEQ ID NO. 20)

[000276] АК LC для клона 24C1 (CDR отмечены подчеркиванием)

25 DIQLTQSPSSLSASVGDVRSFTCQASQDINNFLNWYQQKPGKAPKLLI  
YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLSLPEDIATYYCQQYGNLPFT  
FGGGTKVEIKR (SEQ ID NO. 21)

[000277] АК CDR1 LC для клона 24C1: QASQDINNFLN (SEQ ID NO. 22)

[000278] АК CDR2 LC для клона 24C1: DASNLET (SEQ ID NO. 23)

[000279] АК CDR3 LC для клона 24C1: QQYGNLPFT (SEQ ID NO. 24)

[000280] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTCCAAGTCAAGAAAGCGGACCC  
GGACTGGTGAAGCCTTCTGAGACACTTAGTCTGACGTGCACGGTC  
AGTGGCGGCTCCATCTCCTCCTATTATTGGTCATGGATACGACAA  
5 CCCCCAGGTAAGGGCCTGGAATGGATTGGCTATATCTACTATTCA  
GGAAGCACGAACTACAATCCCAGCCTGAAGTCCCGAGTGACAATT  
TCAGTAGATACCAGTAAAAACCAGTTCAGTCTTAAACTGTCAAGC  
GTGACAGCTGCCGACACCGCTGTGTATTACTGCGTCTCACTGGTG  
TATTGTGGAGGGGATTGTTATAGCGGGTTCGATTATTGGGGACAG  
10 GGAACCCTGGTGACTGTATCTTCCGGCGGGCGGCGGCTCAGGGGGT  
GGCGGTAGTGGCGGTGGGGGTTCGATATTCAACTGACACAATCC  
CCCAGCTCACTCAGCGCCAGCGTGGGGGACAGGGTTAGCTTTACC  
TGTC AAGCCTCTCAGGATATAAATAACTTTCTGAACTGGTATCAA  
CAGAAGCCTGGGAAGGCGCCCAAACCTCCTGATCTATGATGCGTCC  
15 AACCTGGAAACTGGCGTGCCTTCACGCTTTAGCGGCTCTGGCAGT  
GGTACAGACTTCACTTTTACCATCTCTTCACTTCAGCCGGAGGACA  
TCGCCACATATTACTGTCAACAGTACGGAAACTTGCCCTTTACTTT  
TGGAGGCGGCACCAAAGTTGAAATCAAAGGGCCGCTGCCCTGG  
ATAACGAAAAGAGCAATGGGACTATAATACATGTTAAAGGAAA  
20 CACCTGTGTCCATCTCCCCTGTTCCCTGGACCGTCAAAGCCATTTT  
GGGTGCTCGTGGTTGTCTGGTGGCGTTCTCGCCTGTTATAGCTTGCT  
GGTGACAGTAGCCTTCATTATCTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAG  
CCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCC  
TGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGA  
25 TTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGA  
TGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCT  
CAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCA  
GAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAAC  
CCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCT  
30 GAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGG  
AAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA  
AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGT  
AA (SEQ ID NO. 25)

[000281] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

**MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**  
GGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDT  
5 SKNQFSLKLSVTAADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQGLV  
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQDI  
NNFLNWFYQKPKGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITSS  
LQPEDIATYYCQQYGNLPFTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHV  
KGKHLCPSPFLPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSK  
10 RSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSA  
DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKRRGRDPEMGGKPRRKN  
PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLGQGLSTATK  
DTYDA LHMQUALPPR (SEQ ID NO. 26)

[000282] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

15 CAGGTCCAAGTCAAGAAAGCGGACCCGGACTGGTGAAGCCTTCT  
GAGACACTTAGTCTGACGTGCACGGTCAGTGGCGGCTCCATCTCC  
TCCTATTATTGGTCATGGATACGACAACCCCAAGGTAAGGGCCTG  
GAATGGATTGGCTATATCTACTATTCAGGAAGCACGAACACTACAAT  
CCCAGCCTGAAGTCCCGAGTGACAATTCAGTAGATACCAGTAAA  
20 AACCAGTTCAGTCTTAAACTGTCAAGCGTGACAGCTGCCGACACC  
GCTGTGTATTACTGCGTCTCACTGGTGTATTGTGGAGGGGATTGTT  
ATAGCGGGTTCGATTATTGGGGACAGGGAACCCTGGTGAAGTGTAT  
CTTCCGGCGGCGGCGGCTCAGGGGGTGGCGGTAGTGGCGGTGGG  
GGTCCGATATTCAACTGACACAATCCCCAGCTCACTCAGCGCC  
25 AGCGTGGGGGACAGGGTTAGCTTTACCTGTCAAGCCTCTCAGGAT  
ATAAATAACTTTCTGAACTGGTATCAACAGAAGCCTGGGAAGGCG  
CCCAAACCTCTGATCTATGATGCGTCCAACCTGGAAACTGGCGTG  
CCTTCACGCTTTAGCGGCTCTGGCAGTGGTACAGACTTCACTTTTA  
CCATCTCTTCACTTCAGCCGGAGGACATCGCCACATATTACTGTCA  
30 ACAGTACGGAAACTTGCCCTTTACTTTTGGAGGGCGGCACCAAAGT  
TGAAATCAAAAGGGCCGCTGCCCTGGATAACGAAAAGAGCAATG  
GGACTATAATACATGTTAAAGGAAAACACCTGTGTCCATCTCCCC  
TGTTCCCTGGACCGTCAAAGCCATTTTGGGTGCTCGTGGTTGTCGG



5 TGGCGTTCTCGCCTGTTATAGCTTGCTGGTGACAGTAGCCTTCATT  
ATCTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT  
TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACAC  
TACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC  
AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAG  
GGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGA  
AGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGA  
TGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTAT  
AATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAAT  
10 AGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT  
TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCT  
CTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 27)

**[000283]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

15 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI  
GYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC  
VSLVYCGGDCYSGFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ  
LTQSPSSLSASVGDRVSFTCSQASQDINNFLNWYQQKPGKAPKLLIYD  
ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYCQQYGNLPFTFG  
GGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLV  
20 VVGGVLAICYLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRK  
HYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE  
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG  
MKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO.  
28)

25 **[000284]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCGCAGGTGCAGCTGCAGGAATCCGGACCG  
GGGCTGGTGAAGCCCAGCGAGACTCTGAGTCTCACGTGTACAGTT  
TCTGGAGGTAGCATTAGCTCCTACTATTGGTCATGGATAAGGCAG  
30 CCCCCGGGAAGGGATTGGAATGGATCGGCTATATTTACTACAGT  
GGGAGCACCAATTACAACCCTCACTGAAGTCTAGAGTTACAATC  
AGCGTTGACACCTCAAAGAATCAGTTCAGTTTGAATTGTCTAGC

GTCACAGCAGCTGATACAGCCGTCTATTATTGTGTTTCTCTGGTCT  
ATTGCGGTGGGGATTGTTACAGTGGCTTTGACTATTGGGGGCAGG  
GTA CTCTGGTTACAGTTTCTTCCGGGGGGGAGGCTCTGGGGGCG  
GAGGCTCAGGTGGTGGAGGCAGCGACATCCAGTTGACACAGAGC  
5 CCGAGTTCCTTGTCCGCCTCCGTCGGGGATAGAGTGTCAATTTACCT  
GTCAGGCCTCTCAGGATATTAATAACTTTCTGAATTGGTATCAGC  
AAAAGCCCGGAAAGGCACCCAAGCTGTTGATTTACGACGCCAGT  
AACCTGGAGACAGGCGTGCCCTCCCGGTTTAGTGGTAGCGGAAGC  
GGTACGGATTTTACCTTTACTATCAGCTCTCTCCAACCCGAAGACA  
10 TTGCAACCTACTATTGTCAACAATATGGAAACCTGCCTTTTACATT  
TGGCGGCGGCACCAAGGTGGAGATTAAGCGGGCGGCAGCTATTG  
AGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACG  
GTACCATCATTCACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCTCTTCTCCCCT  
CTTCCCCGGGCCATCAAAGCCCTTCTGGGTTCTTGTGGTCGTGGGA  
15 GCGCTGCTTGCTTGTATTCTCTGCTCGTTACCGTGGCGTTTATCA  
TTTTTTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATT  
ACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACT  
ACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCA  
GGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGG  
20 GCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAA  
GAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGAT  
GGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATA  
ATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATA  
GGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTT  
25 TGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTC  
TCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 29)

[000285] AK тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1

(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

30 MALPVTALLLPLALLL**HA**ARPQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVS  
GGSISSYYWSWIRQPPGKLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRTISVDT  
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQGLV  
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQDI  
NNFLNWFYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISS

LQPEDIATYYCQQYGNLPFTFGGGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNE  
KSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTV  
FIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS  
RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM  
5 GKGPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLY  
QGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 30)

**[000286]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1

CAGGTGCAGCTGCAGGAATCCGGACCGGGGCTGGTGAAGCCCAG  
CGAGACTCTGAGTCTCACGTGTACAGTTTCTGGAGGTAGCATTAG  
10 CTCCTACTATTGGTCATGGATAAGGCAGCCCCCGGGAAGGGATT  
GGAATGGATCGGCTATATTTACTACAGTGGGAGCACCAATTACAA  
CCCCTCACTGAAGTCTAGAGTTACAATCAGCGTTGACACCTCAA  
GAATCAGTTCAGTTTGAAATTGTCTAGCGTCACAGCAGCTGATAC  
AGCCGTCTATTATTGTGTTTCTCTGGTCTATTGCGGTGGGGATTGT  
15 TACAGTGGCTTTGACTATTGGGGGCAGGGTACTCTGGTTACAGTT  
TCTTCCGGGGGGGGAGGCTCTGGGGGCAGGCTCAGGTGGTGG  
AGGCAGCGACATCCAGTTGACACAGAGCCCGAGTTCCTTGTCCGC  
CTCCGTCGGGGATAGAGTGTCAATTTACCTGTCAGGCCTCTCAGGA  
TATTAATAACTTTCTGAATTGGTATCAGCAAAAGCCCGGAAAGGC  
20 ACCCAAGCTGTTGATTTACGACGCCAGTAACCTGGAGACAGGCGT  
GCCCTCCCGGTTTAGTGGTAGCGGAAGCGGTACGGATTTTACCTT  
TACTATCAGCTCTCTCCAACCCGAAGACATTGCAACCTACTATTGT  
CAACAATATGGAAACCTGCCTTTTACATTTGGCGGCGGCACCAAG  
GTGGAGATTAAGCGGGCGGCAGCTATTGAGGTGATGTATCCACCG  
25 CCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCATCATTACGTG  
AAAGGTAAACACCTGTGTCCTTCTCCCCTCTTCCCCGGGCCATCAA  
AGCCCTTCTGGGTTCTTGTGGTTCGTGGGAGGCGTGCTTGCTTGTTA  
TTCTCTGCTCGTTACCGTGGCGTTTATCATTTTTTGGGTTAGATCC  
AAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCA  
30 CGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCA  
CCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGA  
TCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTAT  
AACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGA

CAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGAC  
GAAAAAACCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGAT  
AAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCG  
GAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCA  
5 CTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGC  
CACCTAGG (SEQ ID NO. 31)

**[000287]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1  
QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI  
GYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC  
10 VSLVYCGGDCYSGFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ  
LTQSPSSLSASVGDRVSFTCSQASQDINNFLNWFYQQKPKAPKLLIYD  
ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIAITYYCQQYGNLPFTFG  
GGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGP  
SKPFWVLVVVGGVLACYSLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMT  
15 PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY  
NELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK  
MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLST  
ATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO. 32)

**[000288]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1  
ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
20 TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTGCAATTGCAAGAGTCCGGCCCCG  
GACTCGTTAAACCCAGTGAGACGCTTAGCCTGACCTGTACCGTCT  
CAGGGGGCAGCATCTCCTCTTATTACTGGAGCTGGATCAGGCAGC  
CTCCAGGAAAAGGCCTTGAATGGATTGGGTACATCTACTACTCTG  
25 GCTCAACAAATTATAATCCATCCCTGAAGTCCCGCGTGAATATCT  
CTGTGGACACCAGCAAGAATCAGTTTTCACTGAAGTTGTCTAGTG  
TTACCGCGGCCGACACCGCCGTATACTACTGTGTGTCTCTTGTGTA  
CTGTGGCGGCGACTGCTATTCGGGTTCTGACTACTGGGGCCAAGG  
GACTCTGGTAACCGTGTCTCAGGCGGCGGGTCAGGAGGAG  
30 GCGGCAGTGGAGGTGGCGGCTCCGACATCCAGCTGACACAATCA  
CCATCTTCCCTTTCAGCTTCAGTCGGGGACAGAGTGTCTTACAT  
GCCAGGCCAGCCAGGATATCAATAACTTCTGAACTGGTACCAAC

AGAAACCCGGAAAGGCTCCAAAGCTCCTGATCTATGATGCTTCCA  
ACCTGGAGACCGGCGTGCCCTCCAGGTTCAAGTGGTTCAGGATCAG  
GCACTGACTTTACGTTACCATATCCAGTCTTCAGCCCGAAGACA  
TTGCAACCTATTACTGCCAACAATACGGGAACCTTCCCTTTACATT  
5 CGGAGGCGGCACCAAGGTGGAAATCAAAGGGCTGCAGCATTGA  
GCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCTTGCC  
GGCTAAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCCCAGC  
TCCTACCATCGCTTCACAGCCTCTGTCCCTGCGCCAGAGGCTTGC  
CGACCGGCCGCAGGGGGCGCTGTTTCATACCAGAGGACTGGATTTC  
10 GCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGGC  
GTACTCCTGCTGTCCCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGA  
ACAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATA  
TGA CTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTT  
ACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGT  
15 TTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACC  
AACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGAC  
GTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAA  
ACCAAGACGAAAAAACCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGC  
AGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAA  
20 GGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTTGTACCAGGG  
ACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCA  
AGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 33)

**[000289]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1

(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

25 **MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**  
GGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRTISVDT  
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQGLV  
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQDI  
NNFLNWFYQKPKGAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITSS  
30 LQPEDIATYYCQQYGNLPFTFGGGTKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPV  
FLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA  
CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMT  
RRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN

ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM  
AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR  
(SEQ ID NO. 34)

[000290] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1

5 CAGGTGCAATTGCAAGAGTCCGGCCCCGGACTCGTTAAACCCAGT  
GAGACGCTTAGCCTGACCTGTACCGTCTCAGGGGGCAGCATCTCC  
TCTTATTA CTGGAGCTGGATCAGGCAGCCTCCAGGAAAAGGCCTT  
GAATGGATTGGGTACATCTACTACTCTGGCTCAACAAATTATAAT  
CCATCCCTGAAGTCCC GCGTGACTATCTCTGTGGACACCAGCAAG  
10 AATCAGTTTTCACTGAAGTTGTCTAGTGTTACCGCGGCCGACACC  
GCCGTATACTACTGTGTGTCTCTTGTGTACTGTGGCGGCGACTGCT  
ATTCGGGTTTCGACTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTAACCGTGT  
CCTCAGGCGGCGGCGGGTCAGGAGGAGGCGGCAGTGGAGGTGGC  
GGCTCCGACATCCAGCTGACACAATCACCATCTTCCCTTTCAGCTT  
15 CAGTCGGGGACAGAGTGTCTTCACATGCCAGGCCAGCCAGGATA  
TCAATAACTTCCCTGAACTGGTACCAACAGAAACCCGGAAAGGCTC  
CAAAGCTCCTGATCTATGATGCTTCCAACCTGGAGACCGGCGTGC  
CCTCCAGGTT CAGTGGTTCAGGATCAGGCACTGACTTTACGTTCA  
CCATATCCAGTCTTCAGCCC GAAGACATTGCAACCTATTA CTGCC  
20 AACAATACGGGAACCTTCCCTTTACATTCGGAGGCGGCACCAAGG  
TGGA AATCAAAAGGGCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATT  
TTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCTTGCCGGCTAAGCCTACTACCAC  
ACCCGCTCCACGGCCACCTACCCAGCTCCTACCATCGTT CACA  
GCCTCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGCAGGGGG  
25 CGCTGTT CATAACCAGAGGACTGGATTTGCTGCGATATCTATATC  
TGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGGCGTACTCCTGCTGTCCCTG  
GTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAACAGATCCAAAAGAAGC  
CGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCT  
GGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGAT  
30 TTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGAT  
GCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCT  
CAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCA  
GAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAAC

CCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCT  
GAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGG  
AAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA  
AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG  
(SEQ ID NO. 35)

5

**[000291]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI  
GYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC  
VSLVYCGGDCYSGFDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ  
LTQSPSSLSASVGDRVSFTCSQASQDINNFLNWYQQKPKGAPKLLIYD  
ASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYCQQYGNLPFTFG  
GGTKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIAS  
QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVI  
TLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAA  
YRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP  
EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDG  
LYQGLSTATK DTYDALHMQLPPR (SEQ ID NO. 36)

10

15

**[000292]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCGGATATCCAGCTCACGCAATCCCCCTCAA  
GCTTGAGTGCTCCGTGGGCGACCGGGTGTCTTACATGTCAGG  
CAAGCCAAGACATAAATAATTTCTGAATTGGTACCAACAAAAC  
CCGGCAAGGCTCCCAAACCTGATTTATGATGCCTCCAATCTGG  
AGACCGGGGTCCCTTCTAGATTCAGCGGAAGTGGCAGCGGCACA  
GACTTTACATTTACTATCTCTTCTCTGCAACCAGAGGACATCGCCA  
CATACTATTGCCAGCAATACGGCAATCTGCCCTTACCTTCGGAG  
GCGGAACCAAGGTAGAAATTAAGGGGGCGGTGGAGGCTCCGGA  
GGGGGGGGCTCTGGCGGAGGGGGCTCCCAAGTACAATTGCAGGA  
GTCAGGGCCTGGACTCGTGAAGCCTTCAGAACTTTGTCACTGAC  
ATGTACAGTGTCCGGCGGAAGCATTTCAGTTACTATTGGTCCTG  
GATTAGACAGCCACCCGGCAAAGGACTGGAATGGATTGGATATA  
TCTACTACTCTGGATCTACAAACTATAATCCCAGCCTCAAATCCA

20

25

30

GGGTCACTATTAGTGTGGATACATCAAAGAATCAGTTCTCCTTGA  
AGCTGAGCTCAGTCACTGCTGCCGACACCGCAGTGTACTATTGTG  
TGAGCCTGGTCTACTGCGGCGGAGATTGCTACAGCGGTTTCGATT  
ACTGGGGCCAGGGCACCTGGTTACCGTTAGTTCCGCGGCTGCTC  
5 TTGATAACGAGAAGTCCAACGGTACGATTATCCACGTAAAGGGTA  
AGCACCTTTGCCCTAGCCCGCTGTTCCCAGGCCCCAGTAAGCCCTT  
TTGGGTCCTCGTTGTGGTAGGTGGGGTACTCGCCTGCTACTCCCTG  
CTCGTCACTGTTCGCATTCATCATCTTCTGGGTCAGATCCAAAAGA  
AGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGC  
10 CCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGA  
GATTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCA  
GATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGA  
GCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGC  
GCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAA  
15 AACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGAT  
GGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAA  
GGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCT  
ACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCT  
AGGTAA (SEQ ID NO. 37)

20 **[000293]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1  
(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)  
**MALPVTALLLPLALLHAARPD**IQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQAS  
QDINNFLNWFYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF  
TISSLQPEDIATYYCQQYGNLPFTFGGGTKVEIKRGGGGSGGGSGG  
25 GGSQVQLQESGPELVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGL  
EWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY  
YCVSLVYCGDCYSGFDYWGGTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVK  
GKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRS  
RLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADA  
30 PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ  
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT  
YDA LHMQUALPPR (SEQ ID NO. 38)



[000294]

ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

GATATCCAGCTCACGCAATCCCCCTCAAGCTTGAGTGCCTCCGTG  
GGCGACCGGGTGTCTTACATGTCAGGCAAGCCAAGACATAAAT  
AATTTCTGAATTGGTACCAACAAAAACCCGGCAAGGCTCCAAA  
5 CTCCTGATTTATGATGCCTCCAATCTGGAGACCGGGGTCCCTTCTA  
GATTCAGCGGAAGTGGCAGCGGCACAGACTTTACATTTACTATCT  
CTTCTCTGCAACCAGAGGACATCGCCACATACTATTGCCAGCAAT  
ACGGCAATCTGCCCTTACCTTCGGAGGCGGAACCAAGGTAGAAA  
TTAAAAGGGGGCGGTGGAGGCTCCGGAGGGGGGGGCTCTGGCGGA  
10 GGGGGCTCCCAAGTACAATTGCAGGAGTCAGGGCCTGGACTCGTG  
AAGCCTTCAGAACTTTGTCACTGACATGTACAGTGTCCGGCGGA  
AGCATTTCCAGTTACTATTGGTCTTGATTAGACAGCCACCCGGC  
AAAGGACTGGAATGGATTGGATATATCTACTACTCTGGATCTACA  
AACTATAATCCCAGCCTCAAATCCAGGGTCACTATTAGTGTGGAT  
15 ACATCAAAGAATCAGTTCCTTGAAGCTGAGCTCAGTCACTGCT  
GCCGACACCGCAGTGTACTATTGTGTGAGCCTGGTCTACTGCGGC  
GGAGATTGCTACAGCGGTTTCGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTG  
GTTACCGTTAGTTCGCGGCTGCTCTTGATAACGAGAAGTCCAAC  
GGTACGATTATCCACGTTAAGGGTAAGCACCTTTGCCCTAGCCCG  
20 CTGTTCCCAGGCCCCAGTAAGCCCTTTTGGGTCTCGTTGTGGTAG  
GTGGGGTACTCGCCTGCTACTCCCTGCTCGTCACTGTCGCATTCAT  
CATCTTCTGGGTCAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGA  
TTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACA  
CTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAG  
25 CAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCA  
GGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGG  
AAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAG  
ATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTA  
TAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAAT  
30 AGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT  
TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCT  
CTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 39)

[000295]

АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C1

DIQLTQSPSSLSASVGDVRSFTFCQASQDINNFLNWFYQKPGKAPKLLI  
YDASNLETGVPSRFRSGSGSGTDFTFITSSSLQPEDIATYYCQQYGNLPFT  
FGGGTKVEIKRGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLT  
5 CTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRTI  
SVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQ  
GTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVV  
VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRRLHSDYMNMTPRRPGPTRKH  
YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE  
10 YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM  
KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO.  
40)

[000296]

ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
15 TGCACGCCGCACGCCCGGATATCCAGCTGACCCAGTCTCCATCCT  
CTTTGAGTGCCTCCGTGGGTGACCGCGTCTCTTCACTTGCCAAGC  
CAGCCAAGACATCAACAACCTTTCTGAATTGGTACCAGCAGAAACC  
AGGCAAAGCACCAAAGCTCCTCATCTACGACGCCTCCAACCTGGA  
AACCAGGGGTGCCAGCAGGTTTAGCGGGAGCGGTTCTGGCACGG  
20 ATTTTACGTTACCATCTCCTCTCTGCAGCCCGAGGATATAGCTAC  
TTATTACTGTCAGCAGTACGGGAATCTGCCATTTACTTTTGGGGGT  
GGAACATAAGGTGGAAATCAAAAGGGGCGGCGGGGGAAGCGGGG  
GCGGGGGCTCAGGTGGCGGAGGGAGCCAGGTGCAACTCCAGGAA  
AGTGGCCCAGGATTGGTGAAGCCCAGCGAGACCCTTCCCTTACT  
25 TGTACTGTTAGCGGAGGCAGCATAAGCAGCTACTATTGGTCCTGG  
ATCAGACAGCCACCAGGGAAAGGGCTTGAATGGATTGGCTACATT  
TACTATTCCGGGTCCACCAACTACAACCCATCCCTCAAGTCCCGC  
GTGACAATTTCCGTCGACACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAA  
CTTAGTAGCGTCACTGCTGCAGATACAGCAGTGTACTATTGTGTC  
30 AGCCTTGTCTACTGTGGCGGCGACTGCTACAGTGGCTTTGATTACT  
GGGGACAGGGCACGCTCGTGACAGTGTCCAGCGCTGCGGCTATCG  
AGGTAATGTATCCGCCACCGTATCTGGACAACGAGAAGTCTAATG  
GGACAATCATTACGTGAAGGGGAAGCACCTGTGTCCATCCCCC

5 TGTTTCCGGGTCCCAGTAAACCCTTCTGGGTGCTTGTTGTCGTTGG  
CGGGGTGCTGGCCTGCTATTCCCTGCTGGTGACCGTCGCGTTTATT  
ATTTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT  
TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACAC  
TACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC  
AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAG  
GGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGA  
AGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGA  
TGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTAT  
10 AATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAAT  
AGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT  
TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCT  
CTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 41)

[000297] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1  
15 (Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)  
**MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQLTQSPSSLSASVGD**RVSF**TCQAS**  
QDINFLN**WYQ**KPGKAP**LLIYD**ASNLETGVPSRFS**SGSGTDF**TF  
TISSLQPEDIATYYCQYGNLPFTFGGGTKVEIKRGGGGSGGGSGG  
GGSQVQLQESG**PLVKP**SETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRPPGKGL  
20 EWIGYIYYSGSTN**YNPSL**KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY  
YCVSLVYCGGDCYSGFDYWQGT**LVTVSSAAIEVM**PPPYLDNEK  
SNGTIIHVKGKHLCP**SPLFP**GPSKPF**WLVVV**GGVLACYSLLVTVAFI  
IFWVRSKR**SRL**LHSDYMN**MTPRR**PGPTRKH**YQPY**APPRDFAAYRSR  
VKFSRSADAPAYQ**QGQN**QLYNELNLGRREEYD**VLDKRR**GRDPEMG  
25 GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA**YSEIGMK**GERRRGK**GHDGL**YQ  
GLSTATKDTYDALHM**QALPPR** (SEQ ID NO. 42)

[000298] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1  
GATATCCAGCTGACCCAGTCTCCATCCTCTTTGAGTGCCTCCGTGG  
GTGACCGCGTCTCTTTCACTTGCCAAGCCAGCCAAGACATCAACA  
30 ACTTTCTGAATTGGTACCAGCAGAAACCAGGCAAAGCACCAAAG  
CTCCTCATCTACGACGCCTCCAACCTGGAAACCGGGGTGCCCAGC  
AGGTTTAGCGGGAGCGGTTCTGGCACGGATTTTACGTTACCATC

TCCTCTCTGCAGCCCGAGGATATAGCTACTTATTACTGTCAGCAGT  
ACGGGAATCTGCCATTTACTTTTGGGGGTGGAAC TAAGGTGGAAA  
TCAAAAGGGGCGGCGGGGGAAGCGGGGGCGGGGGCTCAGGTGGC  
GGAGGGAGCCAGGTGCAACTCCAGGAAAGTGGCCCAGGATTGGT  
5 GAAGCCCAGCGAGACCCTTTCCCTTACTTGTACTGTTAGCGGAGG  
CAGCATAAGCAGCTACTATTGGTCCTGGATCAGACAGCCACCAGG  
GAAAGGGCTTGAATGGATTGGCTACATTTACTATTCCGGGTCCAC  
CAACTACAACCCATCCCTCAAGTCCC GCGTGACAATTTCCGTCGA  
CACAAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAACTTAGTAGCGTCACTGC  
10 TGCAGATACAGCAGTGTACTATTGTGTCAGCCTTGTCTACTGTGGC  
GGCGACTGCTACAGTGGCTTTGATTACTGGGGACAGGGCACGCTC  
GTGACAGTGTCCAGCGCTGCGGCTATCGAGGTAATGTATCCGCCA  
CCGTATCTGGACAACGAGAAGTCTAATGGGACAATCATTACGTG  
AAGGGGAAGCACCTGTGTCCATCCCCCTGTTTCCGGGTCCCAGT  
15 AAACCCTTCTGGGTGCTTGTGTGTCGTTGGCGGGGTGCTGGCCTGCT  
ATTCCTGCTGGTGACCGTCGCGTTTATTATTTTCTGGGTTAGATC  
CAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCC  
ACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACC  
ACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAG  
20 ATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTA  
TAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGG  
ACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGA  
CGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGA  
TAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGC  
25 GGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGC  
ACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTG  
CCACCTAGG (SEQ ID NO. 43)

**[000299]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C1

DIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQDINNFLN WYQQKPGKAPKLLI  
30 YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF TISSLQPEDIATYYCQYGNLPFT  
FGGGTKVEIKRGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLT  
CTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTI  
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQ

GTLVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPGPS  
KPFWVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTF  
RRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN  
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM  
5 AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR  
(SEQ ID NO. 44)

**[000300]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGGACATTCAATTGACCCAGTCCCCTAGCA  
10 GTCTCTCAGCAAGTGTGGGAGATAGGGTGTCAATCACCTGTCAGG  
CTTACAGGACATCAACAAGTCTCAATTGGTATCAGCAGAAGC  
CAGGGAAGGCACCAAAGCTGCTCATATATGACGCTTCAAACCTTG  
AAACCGGAGTACCTAGCCGCTTCAGCGGAAGCGGATCAGGGACT  
GACTTCACTTTTACCATCTCTTCACTGCAGCCCGAAGACATCGCCA  
15 CATACTACTGCCAGCAGTACGGAAACTTGCCTTTTACATTTGGGG  
GCGGCACCAAAGTGGAGATTAAGCGAGGGGGAGGCGGCTCAGGA  
GGCGGTGGCTCCGGAGGCGGGGGTTCAGGTCCAGCTCCAGGA  
ATCCGGCCCAGGTCTGGTTAAGCCCAGTGAAACTTTGTCCCTCAC  
GTGTAAGTGTGAGCGGTGGTTCAATCTCCTCATACTATTGGTCTTGG  
20 ATACGGCAACCTCCTGGAAAGGGCCTCGAGTGGATCGGCTATATC  
TACTATAGTGGCTCCACTAATTACAACCCTTCCCTCAAGTCCAGA  
GTCACCATTTCCGTGGACACATCTAAGAACCAGTTCAGTCTGAAG  
TTGTCCAGCGTTACAGCCGCAGACACAGCCGTTTATTACTGTGTGT  
CTCTTGTTTACTGCGGGGGAGACTGTTATAGCGGCTTCGATTACTG  
25 GGGCCAGGGCACCTTGGTCACAGTCTCTTCCGCGGCCGCCCTCTC  
TAACAGTATTATGTAATTTCTCATTTTGTACCCGTGTTCCCTTCCCG  
CTAAGCCAACTACTACCCCGGCCCCACGGCCGCCTACCCCTGCAC  
CCACAATAGCCAGTCAGCCTTTGAGCCTGAGACCTGAGGCTTGTC  
GGCCGGCTGCTGGGGGTGCAGTGCACACACGAGGTCTTGATTTTG  
30 CTTGCGACATATACATCTGGGCCCTCTGGCCGGGACCTGTGGGG  
TGCTGCTTCTGAGCTTGGTCATCACGCTCTATTGCAACCATCGCAA  
CAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATAT  
GACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTA

CGCACACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTT  
TTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCA  
ACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACG  
TTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAA  
5 CCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCA  
GAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAG  
GAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGA  
CTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAA  
GCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 45)

10 [000301] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1  
(Сигнальный пептид выделен жирным шрифтом)  
**MALPVTALLLPLALLLHAARPD**IQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQAS  
QDINNFLNWFYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF  
TISSLQPEDIATYYCQQYGNLPFTFGGGTKVEIKRGGGGSGGGGSGG  
15 GGSQVQLQESGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGL  
EWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY  
YCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQGLVTVSSAAALSNSIMYFSHFVPV  
FLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA  
CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMT  
20 RRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN  
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM  
AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR  
(SEQ ID NO. 46)

[000302] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1  
25 GACATTCAATTGACCCAGTCCCCTAGCAGTCTCTCAGCAAGTGTG  
GGAGATAGGGTGTCAATCACCTGTCAGGCTTCACAGGACATCAAC  
AACTTCCTCAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAGGCACCAAAA  
GCTGCTCATATATGACGCTTCAAACCTTGAAACCGGAGTACCTAG  
CCGCTTCAGCGGAAGCGGATCAGGGACTGACTTCACTTTTACCAT  
30 CTCTTCACTGCAGCCCGAAGACATCGCCACATACTACTGCCAGCA  
GTACGGAAACTTGCCTTTTACATTTGGGGGCGGCACCAAAGTGGA  
GATTAAGCGAGGGGGAGGCGGCTCAGGAGGCGGTGGCTCCGGAG

GCGGGGGTTCCCAGGTCCAGCTCCAGGAATCCGGCCCAGGTCTGG  
TTAAGCCCAGTGAAACTTTGTCCCTCACGTGTACTGTGAGCGGTG  
GTTCAATCTCCTCATACTATTGGTCTTGGATACGGCAACCTCCTGG  
AAAGGGCCTCGAGTGGATCGGCTATATCTACTATAGTGGCTCCAC  
5 TAATTACAACCCTTCCCTCAAGTCCAGAGTCACCATTTCCGTGGAC  
ACATCTAAGAACCAGTTCAGTCTGAAGTTGTCCAGCGTTACAGCC  
GCAGACACAGCCGTTTATTACTGTGTGTCTCTTGTTTACTGCGGGG  
GAGACTGTTATAGCGGCTTCGATTACTGGGGCCAGGGCACCTTGG  
TCACAGTCTCTCCGCGGCCGCCCTCTCTAACAGTATTATGTACTT  
10 TTCTCATTTTGTACCCGTGTTCCCTTCCCGCTAAGCCAACTACTACC  
CCGGCCCCACGGCCGCCTACCCCTGCACCCACAATAGCCAGTCAG  
CCTTTGAGCCTGAGACCTGAGGCTTGTGCGGCCGGCTGCTGGGGGT  
GCAGTGCACACACGAGGTCTTGATTTTGTCTTGCACATATACATC  
TGGGCCCCTCTGGCCGGGACCTGTGGGGTGCTGCTTCTGAGCTTG  
15 GTCATCACGCTCTATTGCAACCATCGCAACAGATCCAAAAGAAGC  
CGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCT  
GGCCCCACAAGGAAACTACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGAT  
TTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGAT  
GCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCT  
20 CAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCA  
GAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAAC  
CCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCT  
GAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGG  
AAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA  
25 AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG  
(SEQ ID NO. 47)

**[000303]** AK тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C1

DIQLTQSPSSLSASVGDVRSFTCQASQDINNFLNWXQKPKAPKLLI  
YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITSSLPEDIATYYCQYGNLPFT  
30 FGGGTKVEIKRGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLT  
CTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYPNPSLKSRTI  
SVDTSKNQFSLKLSSVTADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQGT  
LVTVSSAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS

LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY  
CNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS  
RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGREEYDVLDKRRGRDPEMG  
GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ  
5 GLSTATK DTYDALHMQA LPPR (SEQ ID NO. 48)

**[000304]** ДНК тяжелой цепи (HC) для клона 24C8

CAGGTACAGCTGCAGGAATCTGGGCCCCGGACTTGTCAAGCCAAGT  
CAGACACTTTCTCTTACATGTACCGTGAGCGGCGGAAGTATAAGC  
AGTGGAGGCTTTTACTGGTCTTGGATACGGCAGCACCCAGGCAAA  
10 GGCTTGGAGTGGATTGGATACATTCATCATTACAGGATCTACACAC  
TATAATCCATCCCCTTAAGTCCCGGGTCACCATTAGCATTGATACGT  
СТААГААТСТГТТСАГТСТСАГГСТГТСТССТССТСАСТГСТГССГА  
CACAGCCGTGТАСТАСТГСГССТССТТГГТТТАСТГСГГАГГСГА  
СТГТТАТАГСГГСТТТГАТТАТТГГГГГСАГГГГАСССТСГТААС  
15 CGTGAGCTCT (SEQ ID NO. 48)

**[000305]** АК HC для клона 24C8 (CDR отмечены подчеркиванием)

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGFYWSWIRQHPGKGL  
EWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRVTISIDTSKNLFSRLSSVTAADTAVYY  
CASLVYCGGDCYSGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO. 50)

20 **[000306]** АК CDR1 HC для клона 24C8: GGSISSGGF (SEQ ID NO. 51)

**[000307]** АК CDR2 HC для клона 24C8: HHSGS (SEQ ID NO. 52)

**[000308]** АК CDR3 HC для клона 24C8: LVYCGGDCYS GFDY (SEQ ID NO.  
53)

**[000309]** ДНК легкой цепи (LC) для клона 24C8

GATATCCAGCTCACTCAAAGCCCCTAGTCTCTCTGCCTCAGTGG  
GGGATCGGGTCAGTTTTACTTGTCAAGCTTCACAGGATATCAACA  
ACTTCCTTAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGAAAAGCACCCAAGC  
TGCTCATCTATGATGCCTCAAATTTGGAGACGGGTGTTCCCAGTC  
GATTCTCTGGGTCAAGGTCCGGGACCGACTTTACGTTTACGATCTC  
30 CTCTCTGCAGCCCGAAGACATCGCCACATACTATTGTCAACAGTA



CGGCAACTTGCCTTTCACATTTGGGGGCGGGACTAAGGTTGAAAT  
CAAGAGG (SEQ ID NO. 54)

[000310] AK LC для клона 24C8 (CDR отмечены подчеркиванием)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQDINNFLNWYQQKPGKAPKLLI  
5 YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYGNLPFT  
FGGGTKVEIKR (SEQ ID NO. 55)

[000311] AK CDR1 LC для клона 24C8: QASQDINNFLN (SEQ ID NO. 56)

[000312] AK CDR2 LC для клона 24C8: DASNLET (SEQ ID NO. 57)

[000313] AK CDR3 LC для клона 24C8: QQYGNLPFT (SEQ ID NO. 58)

10 [000314] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C8

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTACAGCTGCAGGAATCTGGGCCCCG  
GACTTGTCAAGCCAAGTCAGACACTTTCTCTTACATGTACCGTGA  
GCGGCGGAAGTATAAGCAGTGGAGGCTTTTACTGGTCTTGGATAC  
15 GGCAGCACCCAGGCAAAGGCTTGGAGTGGATTGGATACATTCATC  
ATTCAGGATCTACACACTATAATCCATCCCTTAAGTCCCGGGTCA  
CCATTAGCATTGATACGTCTAAGAATCTGTTCAGTCTCAGGCTGTC  
CTCCGTCACTGCTGCCGACACAGCCGTGTACTACTGCGCCTCCTTG  
GTTTACTGCGGAGGCGACTGTTATAGCGGCTTTGATTATTGGGGG  
20 CAGGGGACCCTCGTAACCGTGAGCTCTGGAGGGGGTGGGAGCGG  
GGGAGGAGGTTCAGGGGGGGGCGGCTCCGATATCCAGCTCACTC  
AAAGCCCCTCTAGTCTCTCTGCCTCAGTGGGGGATCGGGTCAGTT  
TТАCTTGTCAAGCTTCACAGGATATCAACAАCTTCTTAATTGGTA  
TCAGCAGAAGCCAGGAAAAGCACCCAAGCTGCTCATCTATGATGC  
25 CTCAAATTTGGAGACGGGTGTTCCAGTCGATTCTCTGGGTCAGG  
GTCCGGGACCGACTTTACGTTTACGATCTCCTCTCTGCAGCCCGAA  
GACATCGCCACATACTATTGTCAACAGTACGGCAACTTGCCTTTC  
ACATTTGGGGGCGGGACTAAGGTTGAAATCAAGAGGGCCGCTGC  
ACTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACCATCATCCACGTGAAGG  
30 GCAAGCACCTGTGCCCTAGTCCTCTGTTCCAGGCCCATCCAAC

CTTTTTGGGTTCTTGTTGTGGTCGGGGGGGTGCTGGCCTGCTATTC  
TCTGCTGGTCACGGTGGCCTTCATAATTTTCTGGGTTAGATCCAAA  
AGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGC  
CGCCCTGGCCCCACAAGGAAACTACCAGCCTTACGCACCACCT  
5 AGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCT  
GCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAA  
CGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACA  
AGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGA  
AAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAA  
10 GATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGA  
GAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACT  
GCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCA  
CCTAGGTAA (SEQ ID NO. 59)

**[000315]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C8  
(Сигнальный пептид выделен жирным шрифтом)  
15 **MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS**  
GGSISSGGFYWSWIRQHHPGKLEWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRVTISI  
DTSKNLFSRLSSVTAADTAVYYCASLVYCGGDCYSGFDYWGGTL  
VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRSFTCQASQ  
20 DINNFLNWFYQKPKGAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFIT  
SSLQPEDIATYYCQYGNLPFTFGGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIH  
VKGKHLCPSPFPGPSKPFWLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRS  
KRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRS  
ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPENGGKPRRK  
25 NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTAT  
KDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO. 60)

**[000316]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C8  
CAGGTACAGCTGCAGGAATCTGGGCCCCGACTTGTCAAGCCAAGT  
CAGACACTTTCTCTTACATGTACCGTGAGCGGCGGAAGTATAAGC  
30 AGTGGAGGCTTTTACTGGTCTTGGATACGGCAGCACCCAGGCAAA  
GGCTTGGAGTGGATTGGATACATTCATCATTAGGATCTACACAC  
TATAATCCATCCCTTAAGTCCCAGGGTCACCATTAGCATTGATACGT

CTAAGAATCTGTTTCAGTCTCAGGCTGTCCTCCGTCACTGCTGCCGA  
CACAGCCGTGTACTACTGCGCCTCCTTGGTTTACTGCGGAGGCCGA  
CTGTTATAGCGGCTTTGATTATTGGGGGCAGGGGACCCTCGTAAC  
CGTGAGCTCTGGAGGGGGTGGGAGCGGGGGAGGAGGTTTCAGGGG  
5 GGGGCGGCTCCGATATCCAGCTCACTCAAAGCCCCTCTAGTCTCT  
CTGCCTCAGTGGGGGATCGGGTCAGTTTTACTTGTCAAGCTTCAC  
AGGATATCAACAACCTCCTTAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGAA  
AAGCACCCAAGCTGCTCATCTATGATGCCTCAAATTTGGAGACGG  
GTGTTCCAGTCGATTCTCTGGGTCAGGGTCCGGGACCGACTTTA  
10 CGTTTACGATCTCCTCTCTGCAGCCCGAAGACATCGCCACATACT  
ATTGTCAACAGTACGGCAACTTGCCTTTCACATTTGGGGGCGGGA  
CTAAGGTTGAAATCAAGAGGGCCGCTGCACTGGACAATGAGAAG  
TCCAACGGCACCATCATCCACGTGAAGGGCAAGCACCTGTGCCCT  
AGTCCTCTGTTCCAGGCCATCCAAACCTTTTTGGGTTCTTGTTG  
15 TGGTCGGGGGGGTGCTGGCCTGCTATTCTCTGCTGGTCACGGTGG  
CCTTCATAATTTTCTGGGTTAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCTCC  
ATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAA  
GGAAACTACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTCTGCTGCCT  
ATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGT  
20 ATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGA  
CGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA  
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGG  
GTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATT  
CTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCA  
25 CGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTA  
TGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 61)

[000317]

AK тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 24C8

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGFYWSWIRQHPGKGL  
EWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRTVISIDTSKNLFSRLSSVTAADTAVYY  
30 CASLVYCGGDCYSGFYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI  
QLTQSPSSLSASVGDVRSFTCSQASQDINNFLNWFYQQKPGKAPKLLIY  
DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDATYYCQQYGNLPFTF  
GGGTKVEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVL

VVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTR  
KHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR  
EEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI  
GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID  
NO. 62)

5

[000318] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C8

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGTCCG  
GGACTTGTCAAGCCGTCCCAAACGCTGAGTCTGACGTGTACTGTC  
TCTGGTGGCTCTATTTCTTCCGGGGGCTTTTATTGGTCTTGGATCA  
GACAACACCCTGGCAAAGGGCTGGAGTGGATAGGGTATATTCAC  
CACTCTGGGTCCACTCACTACAACCCATCATTGAAATCCAGAGTG  
ACTATCTCAATCGACACATCCAAGAACCTTTTCAGCCTGAGGTTG  
TCATCAGTTACCGCCGCTGACACCGCGGTGTATTATTGCGCCTCTC  
TCGTGTAAGTGGCGATTGTTATAGTGGCTTTGACTACTGGG  
GGCAGGGGACATTGGTTACCGTTTCAAGTGGAGGCGGTGGGTCTG  
GCGGGGGCGGTAGCGGAGGTGGGGGGAGCGACATACAGCTTACG  
CAGAGCCCCTCCAGCCTTTTCAGCCTCCGTGGGGGATAGGGTGTCC  
TTTACCTGCCAGGCTTCCCAGGACATAAACAACCTTCTCAATTGGT  
ATCAGCAAAAGCCCAGGAAAGCACCAAAGCTGCTCATCTACGAT  
GCCAGCAACCTGGAAACCGGAGTGCCGTCTCGCTTCTCTGGAAGT  
GGCAGTGGGACCGATTTCACTTTTACAATCTCAAGTTTGCAGCCA  
GAAGACATTGCAACATACTACTGTCAACAGTACGGCAATCTCCCC  
TTTACATTTGGGGGGGAACTAAAGTGGAGATTAAGCGCGCTGCA  
GCCATTGAAGTTATGTATCCGCCCCGTATCTGGATAACGAGAAA  
TCTAATGGTACCATAATACATGTGAAGGGGAAGCACCTCTGTCCA  
TCACCGCTGTTCCCCGGCCCTTCAAACCTTTCTGGGTACTCGTTG  
TCGTGGGTGGAGTTCTGGCCTGCTATAGTCTGCTGGTGACCGTGG  
CGTTTATCATCTTCTGGGTAAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCC  
ATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAA  
GGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCT  
ATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCAGATCTGCAGATGCACCAGCGT  
ATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGA

10

15

20

25

30

CGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA  
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGG  
GTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATT  
CTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCA  
5 CGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTA  
TGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO.  
63)

[000319] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C8

(Сигнальный пептид выделен жирным шрифтом)

**MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS**  
GGSISSGGFYWSWIRQHHPGKGLEWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRVTISI  
5 DTSKNLFSRLSSVTAADTAVYYCASLVYCGGDCYSGFDYWGQGTL  
VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQ  
DINNFLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFI  
SSLQPEDIATYYCQQYGNLPFTFGGGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLD  
NEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVT  
10 VAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAY  
RSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE  
MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDL  
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 64)

[000320] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C8

15 CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGTCCGGGACTTGTCAAGCCGTCC  
CAAACGCTGAGTCTGACGTGTA CTGTCTCTGGTGGCTCTATTTCTT  
CCGGGGGCTTTTATTGGTCTTGGATCAGACAACACCCTGGCAAAG  
GGCTGGAGTGGATAGGGTATATTCACCACTCTGGGTCCACTCACT  
ACAACCCATCATTGAAATCCAGAGTGA CTATCTCAATCGACACAT  
20 CCAAGAACCTTTTCAGCCTGAGGTTGTCATCAGTTACCGCCGCTG  
ACACCGCGGTGTATTATTGCGCCTCTCTCGTGTACTGCGGTGGCG  
ATTGTTATAGTGGCTTTGACTACTGGGGGCAGGGGACATTGGTTA  
CCGTTTCAAGTGGAGGCGGTGGGTCTGGCGGGGGCGGTAGCGGA  
GGTGGGGGGAGCGACATA CAGCTTACGCAGAGCCCCCTCCAGCCTT  
25 TCAGCCTCCGTGGGGGATAGGGTGTCTTTACCTGCCAGGCTTCC  
CAGGACATAAACA ACTTCCTCAATTGGTATCAGCAAAAGCCCGGG  
AAAGCACCAAAGCTGCTCATCTACGATGCCAGCAACCTGGAAACC  
GGAGTGCCGTCTCGCTTCTCTGGAAGTGGCAGTGGGACCGATTTC  
ACTTTTACAATCTCAAGTTTGCAGCCAGAAGACATTGCAACATAC  
30 TACTGTCAACAGTACGGCAATCTCCCCTTTACATTTGGGGGGGGA  
ACTAAAGTGGAGATTAAGCGCGCTGCAGCCATTGAAGTTATGTAT  
CCGCCCCGTATCTGGATAACGAGAAATCTAATGGTACCATAATA  
CATGTGAAGGGGAAGCACCTCTGTCCATCACCGCTGTTCCCCGGC

5 CCTTCAAAACCTTTCTGGGTA CTCTCGTTGTCGTGGGTGGAGTTCTGG  
CCTGCTATAGTCTGCTGGTGACCGTGGCGTTTATCATCTTCTGGGT  
AAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATAT  
GACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTA  
CGCACCACCTAGAGATTTCTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTT  
TTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCA  
ACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACG  
TTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAA  
CCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCA  
10 GAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAG  
GAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGA  
CTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAA  
GCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 65)

15 **[000321]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 24C8  
QVQLQESG PGLVKPSQ TLSLTCTV SGGSSISSGGFYWSWIRQHPGKGL  
EWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRVTISIDTSKNLFSRLSSVTAADTAVYY  
CASLVYCGGDCYSGFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI  
QLTQSPSSLSASVGD RVSFTCQASQDINNFLN WYQQKPGKAPKLLIY  
DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYGNLPFTF  
20 GGGTKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPG  
PSKPFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKR S RLLHSDYMN M  
TPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQL  
YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD  
KMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP  
25 PR(SEQ ID NO. 66)

30 **[000322]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C8  
ATGGCACTCCCCGTA ACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTGCAGTTGCAGGAAAGCGGGCCT  
GGCCTTGTGAAACCAAGCCAGACACTGAGCCTGACATGCACTGTG  
TCCGGCGGGTCCATATCTTCCGGGGGTTTTTTATTGGTCCTGGATAC  
GCCAGCATCCCGGGAAAGGACTTGAATGGATTGGATATATCCACC  
ATTCCGGAAGCACCCACTACAATCCAAGCCTTAAATCCCGGGTGA

CAATCTCCATCGACACCTCAAAGAATCTTTTTTCCCTGCGGTTGTC  
TTCAGTAACTGCCGCCGATACCGCTGTGTACTACTGTGCCAGCCTC  
GTCTATTGCGGGCGGAGATTGTTATTCTGGGTTCGATTATTGGGGTC  
AAGGCACACTGGTAACTGTCAGCAGCGGAGGCGGCGGTTCGGG  
5 GCGGGGGCAGTGGAGGGGGCGGATCTGACATTCAGCTTACGCA  
GTCCCATCTTCACTTAGCGCCAGCGTTGGCGATCGGGTCAGCTTC  
ACGTGTCAAGCAAGTCAGGATATCAACAACCTTCTTAACTGGTAC  
CAGCAGAAGCCAGGCAAGGCACCCAAGTTGCTGATTTACGATGCT  
TCTAACCTCGAGACGGGAGTGCCTAGCCGCTTCTCCGGGAGCGGC  
10 AGCGGCACAGACTTTACCTTTACGATTTCCAGTCTGCAGCCAGAG  
GATATAGCAACTTATTACTGTCAGCAGTATGGCAACCTCCCTTTTA  
CCTTCGGTGGTGGCACAAGGTCGAGATTAAGAGCCGCAGCG  
TTGTCCAACCTCCATAATGTATTTTTCTCATTTTGTGCCCGTCTTTCT  
GCCTGCCAAACCTACCACCACCCCGCCCCACGACCACCTACTCC  
15 AGCCCCACCATCGCCTCCCAGCCCCTCAGCCTGAGGCCAGAGGC  
TTGTCGCCCTGCTGCGGGGGGCGCTGTCCATACCAGAGGACTCGA  
CTTCGCCTGCGATATTTATATATGGGCCCCCCTCGCCGGCACCTGC  
GGAGTCTTGCTCCTGAGCCTTGTGATCACGCTTTATTGTAACCATC  
GGAATAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGA  
20 ATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGC  
CTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGA  
AGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGA  
ACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTAT  
GACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGG  
25 CAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGC  
TGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATG  
AAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCA  
GGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACAT  
GCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 67)

30 [000323] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C8

(Сигнальный пептид выделен жирным шрифтом)

**MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSS**  
GGSISSGGFYWSWIRQHPGKGLEWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRVTISI



DTSKNLFSRLSSVTAADTAVYYCASLVYCGGDCYSGFDYWGQGTL  
VTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQ  
DINNFLNWFYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPRFSGSGSGTDFFTIS  
SLQPEDIATYYCQYGNLPFTFGGGTKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPV  
5 FLPKPPTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA  
CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMT  
RRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN  
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM  
AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR  
10 (SEQ ID NO. 68)

**[000324]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C8

CAGGTGCAGTTGCAGGAAAGCGGGCCTGGCCTTGTGAAACCAAG  
CCAGACACTGAGCCTGACATGCACTGTGTCCGGCGGGTCCATATC  
TTCCGGGGGTTTTTATTGGTCCTGGATACGCCAGCATCCCGGGAA  
15 AGGACTTGAATGGATTGGATATATCCACCATTCCGGAAGCACCCA  
CTACAATCCAAGCCTTAAATCCCGGGTGACAATCTCCATCGACAC  
CTCAAAGAATCTTTTTTCCCTGCGGTTGTCTTCAGTAACTGCCGCC  
GATACCGCTGTGTACTACTGTGCCAGCCTCGTCTATTGCGGCGGA  
GATTGTTATTCTGGGTTCGATTATTGGGGTCAAGGCACACTGGTA  
20 ACTGTCAGCAGCGGAGGCGGCGGTTCCGGGGGCGGGGGCAGTGG  
AGGGGGCGGATCTGACATTCAGCTTACGCAGTCCCCATCTTCACT  
TAGCGCCAGCGTTGGCGATCGGGTCAGCTTACGTGTCAAGCAAG  
TCAGGATATCAACAACCTTTCTTAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGG  
CAAGGCACCCAAGTTGCTGATTTACGATGCTTCTAACCTCGAGAC  
25 GGGAGTGCCTAGCCGCTTCTCCGGGAGCGGCAGCGGCACAGACTT  
TACCTTTACGATTTCCAGTCTGCAGCCAGAGGATATAGCAACTTA  
TACTGTCAGCAGTATGGCAACCTCCCTTTTACCTTCGGTGGTGGC  
ACAAAGGTCGAGATTAAGAGCCGCAGCGTTGTCCAACCTCCATA  
ATGTATTTTTCTCATTTTGTGCCCGTCTTTCTGCCTGCCAAACCTAC  
30 CACCACCCCGCCCCACGACCACCTACTCCAGCCCCCACCATCGC  
CTCCCAGCCCCTCAGCCTGAGGCCAGAGGCTTGTGCCCCTGCTGC  
GGGGGGCGCTGTCCATAACCAGAGGACTCGACTTCGCCTGCGATAT  
TTATATATGGGCCCCCTCGCCGGCACCTGCGGAGTCTTGCTCCTG

AGCCTTGTGATCACGCTTTATTGTAACCATCGGAATAGATCCAAA  
AGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGC  
CGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCT  
AGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCT  
5 GCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAA  
CGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACA  
AGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGA  
AAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAA  
GATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGA  
10 GAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACT  
GCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCA  
CCTAGG (SEQ ID NO. 69)

**[000325]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 24C8

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGFYWSWIRQHPGKGL  
15 EWIGYIHHSGSTHYNPSLKSRTISIDTSKNLFSRLSSVTAADTAVYY  
CASLVYCGGDCYSGFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI  
QLTQSPSSLSASVGDRVSFTCQASQDINNFLNWYQQKPGKAPKLLIY  
DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFISSLQPEDIATYYCQQYGNLPFTF  
GGGTKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIA  
20 SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL  
VITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF  
AAYSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKRRG  
RDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG  
HDGLYQGLSTA TKDITYDALHM QALPPR (SEQ ID NO. 70)

25 **[000326]** ДНК НС для клона 20C5.1

CAGGTCCAACCTGGTGCAGTCCGGAGCCGAAGTCAAGAAACCAGG  
TGCCTCCGTAAAGTGAGTTGCAAAGTCTCTGGATACTCTGAC  
CGAGCTCTCTATGCACTGGGTCCGGCAGGCCCCCGGCAAGGGATT  
GGAATGGATGGGCGGGTTCGATCCTGAGGACGGAGAGACTATCT  
30 ACGCTCAAAAATTCCAGGGACGAGTGACTGTGACCGAAGACACT  
AGTACCGACACTGCCTACATGGAACCTTCTCTCTGCGATCAGAA  
GATACCGCAGTGTACTACTGTGCTACTGAATCTAGGGGCATTGGA

TGGCCCTACTTCGATTACTGGGGTCAGGGAACTCTGGTGACTGTC  
TCCAGC (SEQ ID NO. 71)

[000327] АК НС для клона 20C5.1 (CDR отмечены подчеркиванием)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGL  
EWMGGFDPEGETIYAQKFQGRVTVTEDTSTDYAYMELSSLRSEDY  
AVYYCATESRGIGWPYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO. 72)

[000328] АК CDR1 НС для клона 20C5.1: GYTLTEL (SEQ ID NO. 73)

[000329] АК CDR2 НС для клона 20C5.1: DPEDGE (SEQ ID NO. 74)

[000330] АК CDR3 НС для клона 20C5.1: ESRGIGWPYFDY (SEQ ID NO. 75)

10 [000331] ДНК LC для клона 20C5.1

GATATTCAGATGACTCAATCTCCTTCTTCTGTCCGCTTCCGTGG  
GCGATAGAGTGACCATTACTTGTAGGGCGTCCCAGTCAATCTCCA  
GTTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGAAAGCACCTAAGC  
TGTTGATCAGCGGGGCTTCTAGCCTGAAGAGTGGGGTACCTTCAC  
GGTTCAGCGGAAGCGGAAGCGGAACCGATTCACCCTGACTATCA  
GCAGCCTGCCACCTGAGGACTTTGCAACTTACTACTGCCAACAGT  
CATAACAGCACTCCGATCACTTTCGGCCAGGGCACCCGGCTCGAAA  
TCAAGCGC (SEQ ID NO. 76)

[000332] АК LC для клона 20C5.1 (CDR отмечены подчеркиванием)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLI  
SGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLPPEDFATYYCQQSYSTPITF  
GQGRLEIKR (SEQ ID NO. 77)

[000333] АК CDR1 LC для клона 20C5.1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO. 78)

[000334] АК CDR2 LC для клона 20C5.1: GASSLKS (SEQ ID NO. 79)

25 [000335] АК CDR3 LC для клона 20C5.1: QQSYSTPIT (SEQ ID NO. 80)

[000336] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.1

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTCCAAGTGGTGCAGTCCGGAGCCG  
AAGTCAAGAAACCAGGTGCCTCCGTTAAAGTGAGTTGCAAAGTCT  
CTGGATACTCTGACCGAGCTCTCTATGCACTGGGTCCGGCAGG  
5 CCCCCGGCAAGGGATTGGAATGGATGGGCGGGTTCGATCCTGAG  
GACGGAGAGACTATCTACGCTCAAAAATTCCAGGGACGAGTGAC  
TGTGACCGAAGACACTAGTACCGACACTGCCTACATGGAAC TTTC  
CTCTCTGCGATCAGAAGATAACCGCAGTGTACTACTGTGCTACTGA  
ATCTAGGGGCATTGGATGGCCCTACTTCGATTACTGGGGTCAGGG  
10 AACTCTGGTGACTGTCTCCAGCGGTGGAGGTGGCAGCGGTGGTGG  
CGGAAGCGGGGGGGGGCGGCTCTGATATTCAGATGACTCAATCTCC  
TTCTTCTCTGTCCGCTTCCGTGGGCGATAGAGTGACCATTACTTGT  
AGGGCGTCCCAGTCAATCTCCAGTTATTTGAATTGGTATCAGCAG  
AAGCCCGGGAAGCACCTAAGCTGTTGATCAGCGGGGCTTCTAGC  
15 CTGAAGAGTGGGGTACCTTCACGGTTCAGCGGAAGCGGAAGCGG  
AACCGATTTACACCTGACTATCAGCAGCCTGCCACCTGAGGACTT  
TGCAACTTACTACTGCCAACAGTCATACAGCACTCCGATCACTTTC  
GGCCAGGGCACCCGGCTCGAAATCAAGCGCGCTGCTGCTTTGGAC  
AATGAGAAGTCAAACGGCACCATCATACATGTTAAAGGTAAACA  
20 TCTGTGTCCCTCCCCGCTGTTCCCCGGCCCTTCCAAACCGTTCTGG  
GTTCTGGTGGTGGTTCGGAGGCGTACTCGCTTGCTATAGTCTGCTG  
GTAAGTGTGCCTTCATCATCTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGC  
CGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCT  
GGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGAT  
25 TTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGAT  
GCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCT  
CAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTTGGACAAGCGCA  
GAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAAC  
CCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCT  
30 GAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGG  
AAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA  
AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGT  
AA (SEQ ID NO. 81)

[000337] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.1  
(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

**MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKV**SCKV  
SGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVT  
5 VTEDTSTDТАYMEЛSSLRSEDTAVYYCATESRGIGWPYFDYWQGT  
LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRAS  
QSISSYLNWYQQKPKGAPKLLISGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI  
SSLPPEDFATYYCQSYSTPITFGQGTRLEIKRAAALDNEKSNGTIIHV  
K GKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSK  
10 RSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSA  
DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN  
PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATK  
DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 82)

[000338] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.1

15 CAGGTCCA ACTGGTGCAGTCCGGAGCCGAAGTCAAGAAACCAGG  
TGCCTCCGT TAAAGTGAGTTGCAAAGTCTCTGGATACACTCTGAC  
CGAGCTCTCTATGCACTGGGTCCGGCAGGCCCCCGGCAAGGGATT  
GGAATGGATGGGCGGGTTCGATCCTGAGGACGGAGAGACTATCT  
ACGCTCAAAAATTCCAGGGACGAGTGA CTGTGACCGAAGACACT  
20 AGTACCGACACTGCCTACATGGA ACTTTCCTCTCTGCGATCAGAA  
GATACCGCAGTGTACTACTGTGCTACTGAATCTAGGGGCATTGGA  
TGGCCCTACTTCGATTACTGGGGTCAGGGAACTCTGGTGA CTGTC  
TCCAGCGGTGGAGGTGGCAGCGGTGGTGGCGGAAGCGGGGGGGG  
CGGCTCTGATATTCAGATGACTCAATCTCCTTCTTCTCTGTCCGCT  
25 TCCGTGGGCGATAGAGTGACCATTACTTG TAGGGCGTCCCAGTCA  
ATCTCCAGTTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGAAAGCA  
CCTAAGCTGTTGATCAGCGGGGCTTCTAGCCTGAAGAGTGGGGTA  
CCTTCACGGTTCAGCGGAAGCGGAAGCGGAACCGATTCACCCTG  
ACTATCAGCAGCCTGCCACCTGAGGACTTTGCAACTTACTACTGC  
30 CAACAGTCATACAGCACTCCGATCACTTTCGGCCAGGGCACCCGG  
CTCGAAATCAAGCGCGCTGCTGCTTTGGACAATGAGAAGTCAAAC  
GGCACCATCATA CATGT TAAAGGTAAACATCTGTGTCCCTCCCCG  
CTGTTCCCCGGCCCTTCCA AACCGTTCTGGGTTCTGGTGGTGGTTCG

5 GAGGCGTACTCGCTTGCTATAGTCTGCTGGTAACTGTCGCCTTCAT  
CATCTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGA  
TTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACA  
CTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAG  
CAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCA  
GGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGG  
AAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAG  
ATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTA  
TAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAAT  
10 AGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT  
TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCT  
CTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 83)

**[000339]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28Т CD3 дзета для клона 20С5.1

15 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGL  
EWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTVTEDTSTDТАYMEЛSSLRSEDT  
AVYYCATESRGIGWPYFDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS  
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI  
SGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPPEDFATYYCQQSYSTPITF  
GQGTRLEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLV  
20 VVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRSKRSLRHSDYMNMTPRRPGPTRK  
HYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE  
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG  
MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO.  
84)

**[000340]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20С5.1

25 ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCGCAGGTGCAGCTTGTGCAGAGCGGGGCC  
GAGGTGAAGAAGCCCGGGGCCAGCGTCAAAGTGTCCTGTAAGGT  
CAGCGGTTACACCCTCACCAGCTGAGCATGCACTGGGTACGGCA  
30 GGCTCCCGGCAAAGGTCTTGAGTGGATGGGTGGATTTGATCCAGA  
AGATGGAGAGACTATCTACGCCAGAAAGTTCCAGGGCCGGGTCA  
CCGTAACAGAAGACACCTCAACTGACACCGCTTACATGGAGCTGA

5 GTTCACTGCGGTCCGAGGACACGGCCGTGTATTATTGTGCCACCG  
AGAGCCGCGGAATCGGATGGCCTTACTTCGACTACTGGGGACAGG  
GTACACTTGTTACAGTATCATCCGGGGGTGGCGGCTCTGGTGGGG  
GCGGCTCCGGAGGGGGTGGATCAGATATCCAAATGACTCAAAGT  
CCAAGTTCCTGTCTGCCTCAGTCGGAGATAGAGTCACCATAACC  
TGCAGGGCAAGTCAGTCCATCTCCTCCTATCTGAACTGGTACCAA  
CAGAAACCTGGAAAGGCGCCTAAGCTCCTGATCTCCGGAGCCTCA  
TCTTTGAAATCCGGTGTCCCATCTCGCTTCAGTGGCTCTGGAAGCG  
10 GTACAGATTTTACTTTGACCATTAGCAGCCTCCACCGGAAGACT  
TTGCTACATATTACTGCCAGCAGTCTTACTCAACCCCAATCACCTT  
CGGGCAAGGCACCAGACTCGAAATAAAAAGAGCAGCTGCTATCG  
AGGTTATGTACCCACCGCCGTACTTGGATAACGAAAAAAGCAATG  
GGACCATCATTCATGTGAAGGGTAAGCACCTTTGCCCTAGCCCAC  
TGTTTCCTGGCCCGAGTAAACCCTTTTGGGTACTTGTGGTCGTCGG  
15 CGGCGTGCTGGCCTGCTACTCACTCCTGGTTACCGTCGCATTCATC  
ATCTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGAT  
TACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACAC  
TACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC  
AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAG  
20 GGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTAACCTGGGACGCAGGGA  
AGAGTATGACGTTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGA  
TGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTAT  
AATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAAT  
AGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGT  
25 TTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCT  
CTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 85)

[000341] AK тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.1

(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

30 MALPVTALLLPLALLL**HA**ARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKV**SCKV**  
SGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVT  
VTEDTSTD~~T~~AYMELSSLRSEDTAVYYCATESRGIGWPYFDYWGQGT  
LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV**GDRVTITCRAS**  
QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLISGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI

SSLPPEDFATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIKRAAAIEVMYPPPYLDNE  
KSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGVLACYLLVTV  
FIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS  
RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM  
5 GKGPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLY  
QGLST ATKD TYDALH MQALPPR (SEQ ID NO. 86)

**[000342]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.1

CAGGTGCAGCTTGTGCAGAGCGGGGCCGAGGTGAAGAAGCCCGG  
GGCCAGCGTCAAAGTGTCTGTAAAGGTCAGCGGTTACACCCTCAC  
10 CGAGCTGAGCATGCACTGGGTACGGCAGGCTCCCGGCAAAGGTCT  
TGAGTGGATGGGTGGATTTGATCCAGAAGATGGAGAGACTATCTA  
CGCCCAGAAGTTCCAGGGCCGGGTCACCGTAACAGAAGACACCT  
CAACTGACACCGCTTACATGGAGCTGAGTTCCTGCGGTCCGAGG  
ACACGGCCGTGTATTATTGTGCCACCGAGAGCCGCGGAATCGGAT  
15 GGCCTTACTTCGACTACTGGGGACAGGGTACACTTGTTACAGTAT  
CATCCGGGGGTGGCGGCTCTGGTGGGGGCGGCTCCGGAGGGGGT  
GGATCAGATATCCAAATGACTCAAAGTCCAAGTTCCTGTCTGCC  
TCAGTCGGAGATAGAGTCACCATAACCTGCAGGGCAAGTCAGTCC  
ATCTCCTCCTATCTGAACTGGTACCAACAGAAACCTGGAAAGGCG  
20 CCTAAGCTCCTGATCTCCGGAGCCTCATCTTTGAAATCCGGTGTCC  
CATCTCGCTTCAGTGGCTCTGGAAGCGGTACAGATTTTACTTTGAC  
CATTAGCAGCCTCCACCGGAAGACTTTGCTACATATTACTGCCA  
GCAGTCTTACTCAACCCAATCACCTTCGGGCAAGGCACCAGACT  
CGAAATAAAAAGAGCAGCTGCTATCGAGGTTATGTACCCACCGCC  
25 GTACTTGGATAACGAAAAAAGCAATGGGACCATCATTCATGTGAA  
GGGTAAGCACCTTTGCCCTAGCCCACTGTTTCCTGGCCCGAGTAA  
ACCTTTTGGGTA CTTGTGGTCGTCGGCGGCGTGCTGGCCTGCTAC  
TCACTCCTGGTTACCGTCGCATTCATCATCTTTTGGGTGAGATCCA  
AAAGAAGCCGCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCAC  
30 GCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCAC  
CTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGAT  
CTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATA  
ACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGAC



AAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACG  
AAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATA  
AGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGG  
AGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCAC  
5 TGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCC  
ACCTAGG (SEQ ID NO. 87)

**[000343]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGL  
EWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTVTEDTSTDYAMELSSLRSEDY  
10 AVYYCATESRGIGWPFYFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS  
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLI  
SGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPPEDFATYYCQQSYSTPITF  
GQGTRLEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPG  
PSKPFWVLLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNM  
15 TPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQL  
YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD  
KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGDLGGLSTATKDTYDALHM  
QALPPR (SEQ ID NO. 88)

**[000344]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.1

ATGGCACTCCCCGTAACCTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
20 TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTGCAGTTGGTGCAAAGCGGCGCA  
GAAGTTAAGAAACCTGGGGCGTCAGTTAAGGTGTCTTGCAAAGTA  
TCTGGCTATAACCCTCACTGAGCTGTCCATGCATTGGGTAAGGCAG  
GCTCCTGGAAAGGGGCTCGAATGGATGGGAGGATTTGACCCTGA  
25 AGACGGAGAGACCATCTACGCCAGAAATTCAGGGTAGAGTAA  
CAGTGACTGAGGACACTAGCACTGACACAGCGTACATGGAGCTG  
AGTTCTCTGAGAAGTGAGGACACAGCCGTTTACTACTGCGCTACC  
GAGTCCAGAGGTATTGGCTGGCCATACTTCGACTATTGGGGTCAG  
GGCACCTGGTTACAGTGAGTTCAGGAGGCGGGGGCTCTGGGGG  
30 GGGCGGTTCCGGAGGGGGGGGCTCAGATATACAGATGACGCAGA  
GTCCATCAAGTCTCTCAGCCAGCGTGGGAGATCGCGTGACTIONTA  
CTTGCCGCGCCAGCCAGAGTATTAGCTCCTATCTGAATTGGTACC

AGCAAAGCCCGGGAAGGCCCTAAGCTTCTGATTTCTGGCGCCT  
CCTCTTTGAAGTCAGGTGTGCCAAGCAGATTTAGCGGGTCTGGAA  
GTGGCACTGACTTTACACTTACTATCTCCAGCCTGCCCCAGAGG  
ATTTTGCCACATATTACTGTCAGCAAAGCTACTCTACTCCAATCAC  
5 TTTCGGCCAGGGCACAAGATTGGAGATTAAGAGGGGCTGCCGCACT  
TTCAAATTCCATCATGTATTTTCAGCCATTTTGTGCCTGTTTTTCTTC  
CGGCCAAACCTACAACCACTCCCGCCCCACGCCACCTACTCCCG  
CCCCTACCATTGCCTCCAGCCTCTGTCTCTTAGACCTGAGGCTTG  
TAGACCTGCTGCCGGCGGAGCCGTGCACACTCGCGGTCTGGACTT  
10 CGCCTGCGACATCTATATCTGGGCCCTCTGGCCGGCACCTGCGG  
CGTTCTCCTTCTCTCACTCGTAATCACACTCTATTGCAATCACAGG  
AACAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCTCCATAGCGATTACATGAAT  
ATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACTACCAGCCT  
TACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAG  
15 TTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAAC  
CAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGA  
CGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCA  
AACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTG  
CAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAA  
20 AGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGG  
GACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGC  
AAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 89)

**[000345]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.1

(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

25 **MALPVTALLLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKV**SCKV  
SGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVT  
VTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATESRGIGWPYFDYWGQGT  
LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRAS  
QSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLISGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI  
30 SSLPPEDFATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIKRAAALSNSIMYFSHFVP  
VFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF  
ACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMT  
PRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY

NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK  
MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPP  
R (SEQ ID NO. 90)

[000346] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.1

5 CAGGTGCAGTTGGTGCAAAGCGGCGCAGAAGTTAAGAAACCTGG  
GGCGTCAGTTAAGGTGTCTTGCAAAGTATCTGGCTATACCTCAC  
TGAGCTGTCCATGCATTGGGTAAGGCAGGCTCCTGGAAAGGGGCT  
CGAATGGATGGGAGGATTTGACCCTGAAGACGGAGAGACCATCT  
ACGCCAGAAATTCAGGGTAGAGTAACAGTGAAGTACTGAGGACACT  
10 AGCACTGACACAGCGTACATGGAGCTGAGTTCTCTGAGAAGTGAG  
GACACAGCCGTTTACTACTGCGCTACCGAGTCCAGAGGTATTGGC  
TGGCCATACTTCGACTATTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTTACAGTG  
AGTTCAGGAGGGCGGGGGCTCTGGGGGGGGCGGTTCCGGAGGGGG  
GGGCTCAGATATACAGATGACGCAGAGTCCATCAAGTCTCTCAGC  
15 CAGCGTGGGAGATCGCGTGAAGTACTTACTTGCCGCGCCAGCCAGAG  
TATTAGCTCCTATCTGAATTGGTACCAGCAAAAGCCCGGAAGGC  
CCCTAAGCTTCTGATTTCTGGCGCCTCCTCTTTGAAGTCAGGTGTG  
CCAAGCAGATTTAGCGGGTCTGGAAGTGGCACTGACTTTACTT  
ACTATCTCCAGCCTGCCCCAGAGGATTTTGCCACATATTAAGTGC  
20 AGCAAAGCTACTCTACTCCAATCACTTTCGGCCAGGGCACAAGAT  
TGGAGATTAAGAGGGCTGCCGCACTTTCAAATTCATCATGTATT  
TCAGCCATTTTGTGCCTGTTTTTCTTCCGGCCAAACCTACAACCAC  
TCCCGCCCCACGCCACCTACTCCCGCCCCTACCATTGCCTCCCAG  
CCTCTGTCTCTTAGACCTGAGGCTTGTAGACCTGCTGCCGGCGGA  
25 GCCGTGCACACTCGCGGTCTGGACTTCGCCTGCGACATCTATATCT  
GGGCCCTCTGGCCGGCACCTGCGGCGTTCTCCTTCTCTCACTCGT  
AATCACACTCTATTGCAATCACAGGAACAGATCCAAAAGAAGCC  
GCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTG  
GCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATT  
30 TCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATG  
CACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTC  
AACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAG  
AGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACC

CCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCT  
GAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGG  
AAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGA  
AGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG  
5 (SEQ ID NO. 91)

[000347] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.1

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGL  
EWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTVTEDTSTDТАYMESSLRSEDТ  
AVYYCATESRGIGWPYFDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS  
10 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI  
SGASSLKSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPPEDFATYYCQQSYSTPITF  
GQGTRLEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIA  
SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL  
VITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF  
15 AAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRG  
RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG  
HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 92)

[000348] ДНК HC для клона 20C5.2

CAGGTCCAGTTGGTCGAAAGTGGCGGTGGTGTAGTGCAGCCGGGC  
20 CGCAGTTTGAGGCTTTCCTGTGCGGCTTCAGGCTTTACTTTTTCCA  
GCTATGGAATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCCCGGCAAAGGACTT  
GAGTGGGTGGCCGTCATTTCTTATGACGGATCAGATAAGTACTAC  
GTGGACAGCGTCAAGGGCAGATTCACCATCTCTAGGGACAACAGT  
AAAААТАGACTCTACCTCCAGATGAATAGCCTCAGAGCTGAAGAC  
25 ACGGCCGTCTACTATTGTGCTCGGGAGCGGTATAGTGGCAGAGAC  
TACTGGGGGCAGGGCACACTCGTTACAGTGAGTAGC (SEQ ID NO.  
93)

[000349] АК HC для клона 20C5.2 (CDR отмечены подчеркиванием)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTESSYGMHWVRQAPGKGLE  
30 WVAVISYDGSDKYYVDSVKGRFTISRDN SKNRLYLQMN SLRAEDTA  
VYYCARERYSGRDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO. 94)

[000350] АК CDR1 HC для клона 20C5.2: GFTFSSY (SEQ ID NO. 95)

[000351] АК CDR2 HC для клона 20C5.2: SYDGSD (SEQ ID NO. 96)

[000352] АК CDR3 HC для клона 20C5.2: ERYSGRDY (SEQ ID NO. 97)

[000353] ДНК LC для клона 20C5.2

5 GAGATTGTTATGACCCAGAGTCCTGCGACCCTCTCAGTCAGCCCC  
GGGGAGCGCGCAACTTTGTCTTGCAGAGCTAGTCAGTCCGTGTCC  
TCTCTTCTGACATGGTACCAGCAAAAGCCCGGGCAGGCTCCGCGC  
CTTTTGATCTTTGGGGCTTCAACAAGAGCCACTGGGATTCCCGCA  
CGATTCTCTGGCTCCGGGAGCGGTACTGGTTTCACCCTGACGATT  
10 AGCAGTCTCCAGAGCGAGGACTTCGCCGTATACTACTGCCAGCAG  
TACGATACGTGGCCATTCACCTTTGGACCAGGGACTAAAGTGGAT  
TTTAAGCGC (SEQ ID NO. 98)

[000354] АК LC для клона 20C5.2 (CDR отмечены подчеркиванием)

15 EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLI  
FGASTRATGIPARFSGSGSGTGFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYDTWPF  
TFGPGTKVDFKR (SEQ ID NO. 99)

[000355] АК CDR1 LC для клона 20C5.2: RASQSVSSLLT (SEQ ID NO. 100)

[000356] АК CDR2 LC для клона 20C5.2: GASTRAT (SEQ ID NO. 101)

[000357] АК CDR3 LC для клона 20C5.2: QQYDTWPFT (SEQ ID NO. 102)

20 [000358] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2  
ATGGCACTCCCCGTAACCTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTCCAGTTGGTCGAAAGTGGCGGTG  
GTGTAGTGCAGCCGGGCCGCAGTTTGAGGCTTTCCTGTGCGGCTT  
CAGGCTTTACTTTTTCCAGCTATGGAATGCACTGGGTGCGGCAGG  
25 CCCCCGGCAAAGGACTTGAGTGGGTGGCCGTCATTTCTTATGACG  
GATCAGATAAGTACTACGTGGACAGCGTCAAGGGCAGATTCACC  
ATCTCTAGGGACAACAGTAAAAATAGACTCTACCTCCAGATGAAT  
AGCCTCAGAGCTGAAGACACGGCCGTCTACTATTGTGCTCGGGAG  
CGGTATAGTGGCAGAGACTACTGGGGGCAGGGCACACTCGTTAC

AGTGAGTAGCGGCGGAGGAGGGAGTGGGGGCGGTGGCTCCGGTG  
GAGGAGGTTCTGAGATTGTTATGACCCAGAGTCCTGCGACCCTCT  
CAGTCAGCCCCGGGGAGCGCGCAACTTTGTCTTGCAGAGCTAGTC  
AGTCCGTGTCCTCTCTTCTGACATGGTACCAGCAAAGCCCGGGC  
5 AGGCTCCGCGCCTTTTGATCTTTGGGGCTTCAACAAGAGCCACTG  
GGATTCCCGCACGATTCTCTGGCTCCGGGAGCGGTACTGGTTTCA  
CCCTGACGATTAGCAGTCTCCAGAGCGAGGACTTCGCCGTATACT  
ACTGCCAGCAGTACGATACGTGGCCATTCACCTTTTGGACCAGGGA  
CTAAAGTGGATTTTAAGCGCGCCGCGCTCTCGATAACGAAAAGT  
10 CAAATGGCACCATAATCCACGTCAAAGGCAAGCACCTGTGCCCTT  
CCCCGCTCTTCCCCGGACCCAGTAAACCATTTTGGGTGCTGGTTGT  
TGTGGGGGGCGTGCTGGCCTGCTATAGCCTTTTGGTCACTGTAGC  
CTTCATTATTTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCAT  
AGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGG  
15 AAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTAT  
CGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTAT  
CAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACG  
CAGGGAAGAGTATGACGTTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACC  
CTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGT  
20 CTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCT  
GAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACG  
ACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATG  
ACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO.  
103)

25 **[000359]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2  
(Сигнальный пептид выделен жирным шрифтом)  
**MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA**  
SGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGS DKYYVDSVKGRFTI  
SRDNSKNRLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERYSGRDYWGQGLVTV  
30 SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS  
LLTWYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGSGTGFTLTISSLQS  
EDFAVYYCQQYDTWPFTFGPGTKVDFKRAAALDNEKSNGTIIHVKG  
KHLCPSP LFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSR

LLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAP  
AYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE  
GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATK  
DTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 104)

5 [000360] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2  
CAGGTCCAGTTGGTTCGAAAGTGGCGGTGGTGTAGTGCAGCCGGGC  
CGCAGTTTGAGGCTTTCCTGTGCGGCTTCAGGCTTTACTTTTTCCA  
GCTATGGAATGCACTGGGTGCGGCAGGCCCGGCAAAGGACTT  
GAGTGGGTGGCCGTCATTTCTTATGACGGATCAGATAAGTACTAC  
10 GTGGACAGCGTCAAGGGCAGATTCACCATCTCTAGGGACAACAGT  
AAAAATAGACTCTACCTCCAGATGAATAGCCTCAGAGCTGAAGAC  
ACGGCCGTCTACTATTGTGCTCGGGAGCGGTATAGTGGCAGAGAC  
TACTGGGGGCAGGGCACACTCGTTACAGTGAGTAGCGGCGGAGG  
AGGGAGTGGGGGCGGTGGCTCCGGTGGAGGAGGTTCTGAGATTG  
15 TTATGACCCAGAGTCCTGCGACCCTCTCAGTCAGCCCCGGGGAGC  
GCGCAACTTTGTCTTGCAGAGCTAGTCAGTCCGTGTCCTCTCTTCT  
GACATGGTACCAGCAAAAGCCCGGGCAGGCTCCGCGCCTTTTGAT  
CTTTGGGGCTTCAACAAGAGCCACTGGGATTCCCGCACGATTCTC  
TGGCTCCGGGAGCGGTACTGGTTTCACCCTGACGATTAGCAGTCT  
20 CCAGAGCGAGGACTTCGCCGTATACTACTGCCAGCAGTACGATAC  
GTGGCCATTCACTTTTGGACCAGGGACTAAAGTGGATTTTAAGCG  
CGCCGCCGCTCTCGATAACGAAAAGTCAAATGGCACCATAATCCA  
CGTCAAAGGCAAGCACCTGTGCCCTTCCCCGCTCTTCCCCGGACC  
CAGTAAACCATTTTGGGTGCTGGTTGTTGTGGGGGGCGTGCTGGC  
25 CTGCTATAGCCTTTTGGTCACTGTAGCCTTCATTATTTTTTGGGTC  
AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATG  
ACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTAC  
GCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTT  
TCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCA  
30 ACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACG  
TTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAA  
CCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCA  
GAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAG

GAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGA  
CTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAA  
GCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 105)

**[000361]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28Т CD3 дзета для клона 20С5.2

5 QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAVISYDGS DKYYVDSVKGRFTISRDN SKNRLYLQMN SLRAEDTA  
VYYCARERYSGRDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMT  
QSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLIFGAST  
RATGIPARFSGSGSGTGFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYDTWPF TFGPG  
10 TKVDFKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFWVLVVV  
GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHY  
QPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY  
DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK  
GERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO.  
15 106)

**[000362]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20С5.2

ATGGCACTCCCCGTA AACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGCGGCG  
GCGTGGTCCAGCCC GGCCGGTCCCTGCGCCTGTCCTGCGCCGCCA  
20 GCGGGTTTACTTTTTCTCCTACGGCATGCACTGGGTGCGCCAGGC  
TCCCGGCAAGGGCCTCGAGTGGGTGCGCGTGATCTCATA CGATGG  
GTCAGACAAATACTATGTCGATTCTGT TAAAGGGCGGTTTACCAT  
TTCAAGAGATAACTCTAAGAATAGGCTGTATTTGCAGATGAACAG  
CCTGAGGGCTGAAGATAACCGCAGTGTACTATTGCGCTAGGGAGCG  
25 GTATAGTGGCCGCGATTACTGGGGACAGGGTACACTGGTGACCGT  
GAGCTCTGGGGGTGGCGGAAGCGGGGGTGGCGGAAGCGGCGGAG  
GGGGTAGTGAAATTGTGATGACCCAGTCTCCGGCTACACTTT CAG  
TCTCCCCTGGGGAGAGAGCTACACTGTCATGCAGAGCGTCCCAGT  
CCGTCTCTTCTCTCCTTACCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCCAGGC  
30 TCCTCGACTGCTGATCTTCGGTGCCTCCACAAGGGCGACCGGGAT  
TCCAGCCC GCTTCTCAGGTTCTGGGAGCGGAACTGGTTTCACTTTG  
ACAATCAGTTCACTGCAGTCAGAGGATTTCCGCCGTGTACTACTGC



5 CAGCAATACGACACATGGCCATTCACCTTTCGGACCCGGTACCAAA  
GTCGATTTCAAGAGAGCCGCGGCCATCGAGGTTATGTACCCACCA  
CCATATCTGGACAATGAAAAAAGCAATGGAACCATTTATCCATGTG  
AAGGGTAAACACCTCTGCCCTAGCCCACTTTTCCCTGGCCCATCA  
AAGCCCTTCTGGGTCTTGGTGGTCGTGGGGGGTGTGCTGGCCTGT  
TACAGCCTTCTGGTGACGGTTGCTTTCATTATCTTCTGGGTTAGAT  
CCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTC  
CACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCAC  
CACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCA  
10 GATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGT  
ATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTG  
GACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAG  
ACGAAAAAACCCCAAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGG  
ATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAG  
15 CGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAG  
CACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCT  
GCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 107)

[000363] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2  
(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

20 **MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA**  
SGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGS DKYYVDSVKGRFTI  
SRDNSKNRLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERYSGRDYWGQGLVTV  
SSGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS  
LLTWYQQKPGQAPRLLIFGA STRATGIPARFSGSGSGTGFTLTISSLQS  
25 EDFAVYYCQQYDTWPFTFGPGTKVDFKRAAAIEVMYPPPYLDNEKS  
NGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFII  
FWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRV  
KFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGG  
KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQG  
30 LSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 108)

[000364]

ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2

CAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGCGGCGGCGTGGTCCAGCCCGGC  
CGGTCCCTGCGCCTGTCCTGCGCCGCCAGCGGGTTTACTTTTTCT  
CCTACGGCATGCACTGGGTGCGCCAGGCTCCCGGCAAGGGCCTCG  
5 AGTGGGTGCGCGTGATCTCATACGATGGGTGAGACAAATACTATG  
TCGATTCTGTAAAGGGCGGTTTACCATTTCAGAGATAACTCTA  
AGAATAGGCTGTATTTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCTGAAGAT  
ACCGCAGTGTACTATTGCGCTAGGGAGCGGTATAGTGGCCGCGAT  
TACTGGGGACAGGGTACACTGGTGACCGTGAGCTCTGGGGGTGGC  
10 GGAAGCGGGGGTGGCGGAAGCGGCGGAGGGGGTAGTGAAATTGT  
GATGACCCAGTCTCCGGCTACACTTTCAGTCTCCCCTGGGGAGAG  
AGCTACACTGTCATGCAGAGCGTCCCAGTCCGTCTTCTCTCCTT  
ACCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTCGACTGCTGATC  
TTCGGTGCTCCACAAGGGCGACCGGGATTCCAGCCCGCTTCTCA  
15 GGTCTGGGAGCGGAAGTGGTTTCACTTTGACAATCAGTTCCTG  
CAGTCAGAGGATTTGCGCGTGTACTACTGCCAGCAATACGACACA  
TGGCCATTCCTTTCGGACCCGGTACCAAAGTCGATTTCAAGAGA  
GCCGCGGCCATCGAGGTTATGTACCCACCACCATATCTGGACAAT  
GAAAAAAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAGGGTAAACACCT  
20 CTGCCCTAGCCACTTTTCCCTGGCCATCAAAGCCCTTCTGGGTG  
TTGGTGGTTCGTGGGGGGTGTGCTGGCCTGTTACAGCCTTCTGGTG  
ACGGTTGCTTTCATTATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGC  
CTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGC  
CCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTC  
25 GCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCA  
CCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAA  
CCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAG  
GACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCC  
CAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGA  
30 AGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAA  
AAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAG  
GATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG

(SEQ ID NO. 109)

**[000365]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2  
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAVISYDGS DKYYVDSVKGRFTISRDN SKNRLYLQMN SLRAEDTA  
VYYCARERYSGRDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMT  
5 QSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLIFGAST  
RATGIPARFSGSGSGTGFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYDTWPFTFGPG  
TKVDFKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSK  
PFWVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMPR  
RPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE  
10 LNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA  
EAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR  
(SEQ ID NO. 110)

**[000366]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2  
ATGGCACTCCCCGTA AACTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
15 TGCACGCCGCACGCCCGCAGGTGCAGTTGGTTGAATCAGGAGGG  
GGTGTGGTGCAACCCGGTCGGTCACTGCGCCTCAGTTGTGCTGCT  
TCCGGGTTTACTTTCAGCTCATATGGGATGCACTGGGTACGGCAG  
GCTCCAGGTAAAGGCTTGGAATGGGTGGCGGTGATCAGCTATGAC  
GGCTCTGACAAATATTATGTGGACTCCGTGAAAGGCAGATTCACC  
20 ATCAGTCGAGACA AACTCAAAGAATAGACTCTACTTGCAGATGAAT  
AGCCTCCGGGCCGAAGATACTGCAGTCTATTATTGCGCCCGGGAG  
CGCTACAGTGGAAGAGACTATTGGGGGCAAGGAACTCTTGTCACA  
GTCTCATCTGGCGGCGGCGGCAGCGGTGGGGGCGGATCTGGCGG  
GGGCGGCAGCGAAATCGTTATGACTCAGAGTCCTGCCACACTGAG  
25 CGTTAGCCCTGGTGAGAGAGCAACACTTAGCTGCAGAGCTAGTCA  
GAGTGTTTCCAGTCTTTTGACATGGTACCAACAGAAGCCCGGTCA  
AGCTCCACGACTGCTCATCTTCGGTGCATCCACCCGCGCAACCGG  
GATACCCGCCCGGTTTTCCGGTTCTGGAAGTGGCACAGGATTCAC  
GCTCACCATTTCTTCTCTGCAGTCTGAAGACTTTGCCGTGTATTAC  
30 TGCCAGCAGTACGATACCTGGCCCTTTACCTTTGGCCCAGGTA CT  
AAAGTGGATTTTAAACGAGCTGCTGCACTTTCCAATAGTATTATG  
TACTTTTCACATTTTGTGCCCGTGTTCCTGCCTGCGAAGCCTACGA  
CAACCCAGCCCCTAGGCCGCCACACCGGCCCAACTATTGCCT

CCCAGCCATTGTCTCTGAGACCCGAAGCTTGCAGACCTGCTGCTG  
GAGGCGCCGTTACACCCGAGGATTGGATTTTCGCATGTGACATTT  
ACATCTGGGCCCCTTTGGCCGGAACCTGCGGTGTGCTGCTGCTGT  
CACTCGTGATTACACTTTACTGCAACCACCGAAACAGATCCAAAA  
5 GAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCC  
GCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTA  
GAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTG  
CAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAAC  
GAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTTGGACAA  
10 GCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAA  
AAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAG  
ATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAG  
AAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTG  
CTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCAC  
15 CTAGGTAA (SEQ ID NO. 111)

[000367] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2

(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

**MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA**  
20 SGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSCKYYVDSVKGRFTI  
SRDNSKNRLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERYSGRDYWGGLVTVS  
SGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS  
LLTWYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGSGTGFLLTISSLQS  
EDFAVYYCQQYDTWPFTFGPGTKVDFKRAAALSNSIMYFSHFVPVFL  
25 PAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC  
DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMPR  
RPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE  
LNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA  
EAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR  
30 (SEQ ID NO. 112)

[000368] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2

CAGGTGCAGTTGGTTGAATCAGGAGGGGGTGTGGTGC AACCCGGT  
CGGTCACTGCGCCTCAGTTGTGCTGCTTCCGGGTTTACTTTCAGCT  
CATATGGGATGCACTGGGTACGGCAGGCTCCAGGTAAAGGCTTGG  
AATGGGTGGCGGTGATCAGCTATGACGGCTCTGACAAATATTATG  
5 TGGACTCCGTGAAAGGCAGATTCACCATCAGTCGAGACA ACTCAA  
AGAATAGACTCTACTTGCAGATGAATAGCCTCCGGGCCGAAGATA  
CTGCAGTCTATTATTGCGCCCGGGAGCGCTACAGTGGAAGAGACT  
ATTGGGGGCAAGGAACTCTTGTCACAGTCTCATCTGGCGGGCGGCG  
GCAGCGGTGGGGGCGGATCTGGCGGGGGCGGCAGCGAAATCGTT  
10 ATGACTCAGAGTCCTGCCACACTGAGCGTTAGCCCTGGTGAGAGA  
GCAACACTTAGCTGCAGAGCTAGTCAGAGTGTTTCCAGTCTTTTG  
ACATGGTACCAACAGAAGCCCGGTCAAGCTCCACGACTGCTCATC  
TTCGGTGCATCCACCCGCGCAACCGGGATAACCCGCCCGGTTTTCC  
GGTCTGGAAGTGGCACAGGATTCACGCTCACCATTTCTTCTCTGC  
15 AGTCTGAAGACTTTGCCGTGTATTACTGCCAGCAGTACGATACCT  
GGCCCTTTACCTTTGGCCCAGGTAATAAGTGGATTTTAAACGAG  
CTGCTGCACTTTCCAATAGTATTATGTACTTTTCACATTTTGTGCC  
CGTGTTCCCTGCCTGCGAAGCCTACGACAACCCAGCCCCTAGGCC  
GCCACACCCGGCCCCAACTATTGCCTCCCAGCCATTGTCTCTGAG  
20 ACCCGAAGCTTGCAGACCTGCTGCTGGAGGCGCCGTTACACCCG  
AGGATTGGATTTTCGCATGTGACATTTACATCTGGGCCCCCTTTGGCC  
GGAACCTGCGGTGTGCTGCTGCTGCTCACTCGTGATTACACTTTACT  
GCAACCACCGAAACAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGC  
GATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAA  
25 CACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGG  
AGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAG  
CAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAG  
GGAAGAGTATGACGTTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTG  
AGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTC  
30 TATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAA  
ATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACG  
GTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACG  
CTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 113)

[000369]

АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAVISYDGS DKYYVDSVKGRFTISRDN SKNRLYLQMN SLRAEDTA  
VYYCARERYSGRDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMT  
5 QSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLIFGAST  
RATGIPARFSGSGSGTGFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYDTPFTFGPG  
TKVDFKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQP  
LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLLSLVITL  
YCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYR  
10 SRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE  
MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL  
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 114)

[000370]

ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
15 TGCACGCCGCACGCCCGGAGATTGTGATGACCCAGTCCCCTGCTA  
CCCTGTCCGTCAGTCCGGGCGAGAGACCACCTTGTCATGCCGGG  
CCAGCCAGTCCGTCAGCAGTCTCCTGACTTGGTATCAGCAAAAAC  
CAGGGCAGGCACCGCGGCTTTTGATTTTGGTGCAAGCACACGCG  
CCTTGGCATTCCAGCTAGGTTTTCTGGAAGTGGATCTGGGACAG  
20 GCTTCACTCTGACAATCAGTAGCCTGCAGAGTGAGGACTTTGCTG  
TTTACTACTGTCAACAGTACGACACCTGGCCATTCACATTCGGGC  
CCGGCACCAAGGTCGACTTCAAGAGGGGCGGTGGAGGTTCAAGT  
ATCAGGTGGCGGGGTTGTCCAACCGGGGCGATCACTTCGACTTTC  
25 CTGTGCTGCCTCAGGCTTTACTTTTTTCATCCTATGGGATGCACTGG  
GTTCCGGCAGGCTCCCGAAAAGGACTCGAGTGGGTTGCAGTGATC  
TCTTACGATGGCTCAGACAAGTATTATGTGGACTCAGTCAAGGGG  
AGATTCACAATAAGCCGAGACAACCTCCAAAAACCGGCTTTATCTC  
CAGATGAACAGCCTTAGAGCGGAAGATAACCGCGGTATACTACTGT  
30 GCCCGCGAGAGGTATTCGGCAGAGACTACTGGGGACAGGGCAC  
ACTGGTCACCGTGAGTTCTGCCGCGAGCGCTCGATAACGAAAAGAG  
CAACGGAACCATATCCACGTTAAGGGCAAGCACCTGTGCCCCAG  
TCCCCTCTTCCCAGGACCATCTAAACCCTTCTGGGTTCTGGTAGTA

GTTGGAGGGGTCCTTGCATGTTACTCCCTTTTGGTCACCGTCGCCT  
TCATTATTTTCTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATA  
GCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGA  
AACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATC  
5 GGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATC  
AGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGC  
AGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCC  
TGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTC  
TCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTG  
10 AAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGA  
CGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGA  
CGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 115)

[000371] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2  
(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

15 **MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA**  
SQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGSGTGFTL  
TISSLQSEDFAVYYCQQYDTWPFTFGPGTKVDFKRGGGGSGGGGSG  
GGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPG  
KGLEWVAVISYDGS DKYYVDSVKGRFTISRDN SKNRLYLQMNSLRA  
20 EDTAVYYCARERYSGRDYWGQGLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVK  
GKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRS  
RLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADA  
PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ  
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT  
25 YDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 116)

[000372] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2

GAGATTGTGATGACCCAGTCCCCTGCTACCCTGTCCGTCAGTCCG  
GGCGAGAGAGCCACCTTGTCATGCCGGGCCAGCCAGTCCGTCAGC  
AGTCTCCTGACTTGGTATCAGCAAAAACCAGGGCAGGCACCGCGG  
30 CTTTTGATTTTTGGTGCAAGCACACGCGCCACTGGCATTCCAGCTA  
GGTTTTCTGGAAGTGGATCTGGGACAGGCTTCACTCTGACAATCA  
GTAGCCTGCAGAGTGAGGACTTTGCTGTTTACTACTGTCAACAGT

ACGACACCTGGCCATTCACATTCGGGCCCCGGCACCAAGGTCGACT  
TCAAGAGGGGGCGGTGGAGGTTCAAGTGGTGGCGGGTCAGGCGGC  
GGTGGGTCTCAGGTTCAACTGGTGAATCAGGTGGCGGCGTTGTC  
CAACCGGGGCGATCACTTCGACTTTCCTGTGCTGCCTCAGGCTTTA  
5 CTTTTTCATCCTATGGGATGCACTGGGTTTCGGCAGGCTCCCAGAA  
AAGGACTCGAGTGGGTTGCAGTGATCTCTTACGATGGCTCAGACA  
AGTATTATGTGGACTCAGTCAAGGGGAGATTCACAATAAGCCGAG  
ACAAC TCCAAAAACCGGCTTTATCTCCAGATGAACAGCCTTAGAG  
CGGAAGATAACCGCGGTATACTACTGTGCCCGCGAGAGGTATTCCG  
10 GCAGAGACTACTGGGGACAGGGCACACTGGTCACCGTGAGTTCTG  
CCGCAGCGCTCGATAACGAAAAGAGCAACGGAACCATTATCCAC  
GTTAAGGGCAAGCACCTGTGCCCCAGTCCCCTCTTCCCAGGACCA  
TCTAAACCCTTCTGGGTTCTGGTAGTAGTTGGAGGGGGTCTTGCAT  
GTTACTCCCTTTTGGTCACCGTCGCCTTCATTATTTTCTGGGTGAG  
15 ATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGAC  
TCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGC  
ACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTC  
CAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAAC  
TGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTT  
20 TGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCA  
AGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAA  
GGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAG  
AGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTC  
AGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCC  
25 CTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 117)

[000373]

АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28T CD3 дзета для клона 20C5.2

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLI  
FGA STRATGIPARFSGSGSGTGFSLTISLQSEDFAVYYCQQYDTWPF  
TFGPGTKVDFKRGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLR  
30 LSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGS DKYYVDSV  
KGRFTISRDN SKNRLYLQMNSLR AEDTAVYYCARERYSGRDYWGQ  
GTLVTVSSAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFVVLVV  
VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKR SRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKH



YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE  
YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM  
KGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO.  
118)

5 [000374] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2  
ATGGCACTCCCCGTAACCTGCTCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGGAGATCGTCATGACACAGAGTCCAGCTA  
CCCTGAGCGTGTCCCCTGGAGAGAGAGCCACCCTGTCCTGTAGGG  
CTAGTCAGAGTGTGTCCAGCCTCCTCACCTGGTATCAACAGAAGC  
10 CTGGTCAAGCTCCCCGGCTGCTTATCTTCGGGGCCAGCACGCGAG  
CCACAGGCATCCCGGCCAGATTCTCTGGCTCTGGCAGTGGCACCG  
GGTTCACCTCTCACGATCTCATCCCTGCAGTCAGAGGATTTTCGCTGT  
GTATTACTGTCAGCAGTACGATACATGGCCCTTCACCTTCGGCCC  
GGGCACAAAAGTAGATTTCAAGCGCGGGCGGGGGTAGTGGGG  
15 GCGGGGGATCAGGAGGAGGGGGCTCCCAAGTACAGCTGGTTGAG  
AGCGGGCGGGGGTGGTTCAGCCCGGGCGCAGCCTCAGGCTGAG  
TTGCGCAGCATCAGGATTCACATTCAGTTCTTATGGAATGCATTG  
GGTCAGACAGGCTCCCGGGAAGGGCCTTGAATGGGTGGCAGTCA  
TTAGCTACGACGGAAGCGATAAGTACTATGTGGACTCAGTTAAAG  
20 GGAGATTTACTATCAGCCGCGACAATTCCAAAAACAGATTGTATT  
TGCAGATGAACTCCCTCAGGGCGGAGGACACTGCTGTATATTACT  
GCGCACGAGAGAGATACTCCGGCCGAGACTATTGGGGCCAAGGA  
ACATTGGTAACTGTGAGCTCCGCCGCAGCTATTGAGGTCATGTAC  
CCCCACCTTATCTCGATAATGAGAAGAGTAATGGGACTATAATT  
25 CACGTAAAGGGCAAACACCTGTGCCCTTCCCCGCTGTTTCCAGGT  
CCAAGTAAGCCGTTCTGGGTCCCTGGTTGTGGTGGGAGGGGTGCTG  
GCCTGCTATTCTCTGTTGGTTACCGTGGCCTTTATCATTTTCTGGGT  
GAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATAT  
GACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTA  
30 CGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTT  
TTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCA  
ACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACG  
TTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAA

CCAAGACGAAAAACCCCCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCA  
GAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAG  
GAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGA  
CTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAA  
GCCCTGCCACCTAGGTAA (SEQ ID NO. 119)

5

[000375] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2  
(Сигнальный пептид выделен **жирным шрифтом**)

**MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA**  
**SQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLIFGASTRATGIPARFSGSGSGTGTFL**  
TISSLQSEDFAVYYCQQYDTPFTFGPGTKVDFKRGGGGSGGGGSG  
GGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPG  
KGLEWVAVISYDGSVKYYVDSVKGRFTISRDNLSKNRLYLQMNLSRA  
EDTAVYYCARERYSGRDYWGQGLVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEK  
SNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFI  
IFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSR  
VKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMG  
GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQ  
GLSTATKD TYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 120)

10

15

[000376] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2

GAGATCGTCATGACACAGAGTCCAGCTACCCTGAGCGTGTCCCCT  
GGAGAGAGAGCCACCCTGTCCTGTAGGGCTAGTCAGAGTGTGTCC  
AGCCTCCTCACCTGGTATCAACAGAAGCCTGGTCAAGCTCCCCGG  
CTGCTTATCTTCGGGGCCAGCACGCGAGCCACAGGCATCCCGGCC  
AGATTCTCTGGCTCTGGCAGTGGCACCGGGTTCCTCTCACGATCT  
CATCCCTGCAGTCAGAGGATTCGCTGTGTATTACTGTCAGCAGT  
ACGATACATGGCCCTTCACCTTCGGCCCGGGCACAAAAGTAGATT  
TCAAGCGCGGCGGCGGGGGTAGTGGGGGCGGGGGATCAGGAGGA  
GGGGGCTCCCAAGTACAGCTGGTTGAGAGCGGCGGGCGGGGTGGT  
TCAGCCCGGGCGCAGCCTCAGGCTGAGTTGCGCAGCATCAGGATT  
CACATTCAGTTCTTATGGAATGCATTGGGTCAGACAGGCTCCCCGG  
GAAGGGCCTTGAATGGGTGGCAGTCATTAGCTACGACGGAAGCG  
ATAAGTACTATGTGGACTCAGTTAAAGGGAGATTTACTATCAGCC

20

25

30

GCGACAATTCCAAAAACAGATTGTATTTGCAGATGAACTCCCTCA  
GGGCGGAGGACACTGCTGTATATTACTGCGCACGAGAGAGATACT  
CCGGCCGAGACTATTGGGGCCAAGGAACATTGGTAACTGTGAGCT  
CCGCCGAGCTATTGAGGTCATGTACCCCCACCTTATCTCGATA  
5 ATGAGAAGAGTAATGGGACTATAATTCACGTAAAGGGCAAACAC  
CTGTGCCCTTCCCCGCTGTTTCCAGGTCCAAGTAAGCCGTTCTGGG  
TCCTGGTTGTGGTGGGAGGGGTGCTGGCCTGCTATTCTCTGTTGGT  
TACCGTGGCCTTTATCATTCTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCG  
CCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGG  
10 CCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTT  
CGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGC  
ACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCA  
ACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGA  
GGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCC  
15 CCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTG  
AAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGA  
AAAGGGCACGACGGTTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAA  
GGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG  
(SEQ ID NO. 121)

20 **[000377]** АК тяжелой и легкой цепей CAR CD28 CD3 дзета для клона 20C5.2  
EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSLLTWYQQKPGQAPRLLI  
FGA STRATGIPARFSGSGSGTGF TLTISLQSEDFAVYYCQYDTWPF  
TFGPGTKVDFKRGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLR  
LSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSDKYYVDSV  
25 KGRFTISRDN SKNRLYLQMNSLR AEDTAVYYCARERYSGRDYWGQ  
GTLVTVSSAA AIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPS  
KPFWVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVR SKRSRL LHSDYMN MTP  
RRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN  
ELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM  
30 AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR  
(SEQ ID NO. 122)

**[000378]** ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCGGAAATAGTGATGACTCAGTCCCCGGCCA  
CCCTCAGCGTGTCCCCGGGGAGCGAGCGACCCTGTCATGCAGGG  
CTTCCCAGAGTGTGCTCAGCTCCCTGCTCACTTGGTATCAGCAAAGC  
5 CGGGGCAGGCTCCCCGCCTCCTCATCTTCGGGGCATCAACTAGGG  
CCACCGGCATTCCCTGCAAGATTTTCCGGGTCTGGCAGCGGCACCG  
GCTTCACCCTTACCATTAGCTCTCTGCAGTCTGAGGACTTCGCCGT  
TTACTATTGTCAGCAGTATGATACTTGGCCCTTTACCTTCGGTCCC  
GGAACTAAGGTGGACTTCAAGCGCGGGGGGGGTGGATCTGGAGG  
10 TGGTGGCTCCGGGGGGCGGTGGAAGCCAGGTCCAGTTGGTTGAGA  
GCGGCGGCGGAGTGGTGCAGCCCGGAGGTCTTGCGGCTGAGC  
TGTGCAGCCTCCGGTTTTACTTTTTCTAGCTATGGAATGCATTGGG  
TAAGACAGGCTCCCGGAAAAGGCCTCGAGTGGGTGGCGGTCATT  
AGCTATGATGGATCTGATAAATACTATGTGGACTCAGTTAAGGGG  
15 CGCTTCACAATCTCAAGAGACAATAGCAAAAATAGACTGTACCTG  
CAGATGAATAGTCTGCGCGCCGAGGACACTGCCGTGTACTACTGC  
GCCCCGCGAGAGATACAGCGGACGGGATTACTGGGGCCAGGGTAC  
CCTCGTAACGGTGTCTCCTCCGCTGCCGCCCTTAGCAACAGCATTAT  
GTACTTTTCTCATTTCGTGCCAGTCTTTCTCCCAGCAAAGCCCACC  
20 ACTACCCCGGCCCCAGGCCGCCTACTCCTGCCCCACTATCGCG  
TCTCAGCCTCTCTCCTTGCGGCCCGAGGCCTGCCGGCCAGCCGCA  
GGGGGCGCCGTACATACTCGGGGTTTGGATTTTCGCTTGCGACATA  
TATATTTGGGCCCCCTCGCCGGCACATGTGGAGTGCTGCTCCTG  
AGTCTCGTTATAACCCTCTATTGCAACCATAGAAACAGATCCAAA  
25 AGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGC  
CGCCCTGGCCCCACAAGGAAACTACCAGCCTTACGCACCACCT  
AGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCT  
GCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTATAA  
CGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACA  
30 AGCGCAGAGGACGGGACCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGA  
AAAAACCCCGAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAGAAGGATAA  
GATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGA  
GAAGGGGAAAAGGGCACGACGGTTTGTACCAGGGACTCAGCACT

GCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCA  
CCTAGGTAA (SEQ ID NO. 123)

[000379] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2

(Сигнальный пептид выделен жирным шрифтом)

5 **MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA**  
SQSVSSLLTWYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGSGTGFTL  
TISSLQSEDFAVYYCQQYDTWPFTFGPGTKVDFKRGGGGSGGGGSG  
GGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPG  
KGLEWVAVISYDGSVKYYVDSVKGRFTISRDNLSKRLYLQMNLSRA  
10 EDTAVYYCARERYSGRDYWGQGLVTVSSAAALSNSIMYFSHFVPV  
FLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA  
CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPT  
RRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN  
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM  
15 AEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR  
(SEQ ID NO. 124)

[000380] ДНК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2

GAAATAGTGATGACTCAGTCCCCGGCCACCCTCAGCGTGTCCCCC  
GGGGAGCGAGCGACCCTGTCATGCAGGGCTTCCCAGAGTGTACAGC  
20 TCCCTGCTCACTTGGTATCAGCAAAAGCCGGGGCAGGCTCCCCGC  
CTCCTCATCTTCGGGGCATCAACTAGGGCCACCGGCATTCCTGCA  
AGATTTTCCGGGTCTGGCAGCGGCACCGGCTTACCCTTACCATT  
AGCTCTCTGCAGTCTGAGGACTTCGCCGTTTACTATTGTCAGCAGT  
ATGATACTTGGCCCTTTACCTTCGGTCCCGGAACTAAGGTGGACTT  
25 CAAGCGCGGGGGGGGTGGATCTGGAGGTGGTGGCTCCGGGGGCG  
GTGGAAGCCAGGTCCAGTTGGTTGAGAGCGGCGGCGGAGTGGTG  
CAGCCCAGGAGGTCCTTGCGGCTGAGCTGTGCAGCCTCCGGTTTT  
ACTTTTTCTAGCTATGGAATGCATTGGGTAAGACAGGCTCCCGGA  
AAAGGCCTCGAGTGGGTGGCGGTCATTAGCTATGATGGATCTGAT  
30 AAATACTATGTGGACTCAGTTAAGGGGCGCTTACAATCTCAAGA  
GACAATAGCAAAAATAGACTGTACCTGCAGATGAATAGTCTGCGC  
GCCGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGCCCGCGAGAGATACAGC

5 GGACGGGATTACTGGGGCCAGGGTACCCTCGTAACGGTGTCTCC  
GCTGCCGCCCTTAGCAACAGCATTATGTA CTTTTCTCATTTTCGTGC  
CAGTCTTTCTCCCAGCAAAGCCCACCACTACCCCGGCCCCAGGC  
CGCCTACTCCTGCCCCACTATCGCGTCTCAGCCTCTCTCCTTGCG  
GCCCCGAGGCCTGCCGGCCAGCCGCAGGGGGCGCCGTACATACTC  
GGGGTTTGGATTTGCTTGCACATATATATTTGGGCCCCCTCGC  
CGGCACATGTGGAGTGCTGCTCCTGAGTCTCGTTATAACCCTCTAT  
TGCAACCATAGAAACAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAG  
CGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAA  
10 AACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCG  
GAGCAGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCA  
GCAGGGCCAGAACCAACTGTATAACGAGCTCAACCTGGGACGCA  
GGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGACCCT  
GAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCCAGGAGGGTCT  
15 CTATAATGAGCTGCAGAAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGA  
AATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAGGGCACGAC  
GGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGAC  
GCTCTCCACATGCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO. 125)

[000381] АК тяжелой и легкой цепей CAR CD8 CD3 дзета для клона 20C5.2  
20 EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSLLTWYQQKPGQAPRLLI  
FGASTRATGIPARFSGSGSGTGFSLTISLQSEDFAVYYCQQYDTWPF  
TFGPGTKVDFKRGSGSGSGSGGSQVQLVESGGGVVQPGRSLR  
LSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGS DKYYVDSV  
KGRFTISRDN SKNRLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERYSGRDYWGQ  
25 GTLVTVSSAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTASQ  
PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVIT  
LYCNHRNRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAY  
RSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE  
MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL  
30 YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO. 126)

[000382] ДНК сигнального пептида CAR

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCC  
TGCACGCCGCACGCCCG (SEQ ID NO. 127)

[000383] Сигнальный пептид CAR: MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID  
NO. 128)

5 [000384] ДНК линкера G4S scFv  
GGCGGTGGAGGCTCCGGAGGGGGGGGCTCTGGCGGAGGGGGCTC  
C (SEQ ID NO. 129)

[000385] Линкер G4S scFv: GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 130)

10 [000386] Дополнительный линкер G4S: GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID  
NO. 145)

[000387] ДНК линкера Уитлоу scFv  
GGGTCTACATCCGGCTCCGGGAAGCCCGGAAGTGGCGAAGGTAG  
TACAAAGGGG (SEQ ID NO. 131)

15 [000388] Линкер Уитлоу scFv: GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO.  
132)

[000389] АК внеклеточного домена CD28  
MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVNLSCKYSYNLF  
SREFRASLHKGLDSAVEVCVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDGKLGNE  
SVTFYLQNLVYNQTDIYFCKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLK  
PSPLFPGPSKP (SEQ ID NO. 133)

[000390] GX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub> (SEQ ID NO: 134)

[000391] X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub> (SEQ ID NO: 135)

[000392] X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>DY (SEQ ID NO: 136)

[000393] X<sub>1</sub>ASQX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>LX<sub>11</sub> (SEQ ID NO: 137)

25 [000394] X<sub>1</sub>ASX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 138)

[000395] QQX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>PX<sub>8</sub>T (SEQ ID NO: 139)

- [000396] AK CLL-1 (также известного как CLEC12A)  
MSEEVTYADLQFQNSSEMEKIPEIGKFGEKAPPAPSHVWRPAALFLT  
LLCLLLLIGLGVLASMFHVTLKIEMKKMNKLQNISEELQRNISLQLMS  
NMNISNKIRNLSTTLQTIATKLCRELYSKEQEHEKCKPCPRRWIWHKD  
5 SCYFLSDDVQWTWQESKMACAAQNASLLKINNKNLEFIKSQSRSYD  
YWLGLSPEEDSTRGMRVDNIINSSAWVIRNAPDLNNMYCGYINRLY  
VQYYHCTYKKRMICEKMANPVQLGSTYFREA (SEQ ID NO. 140)
- [000397] Нуклеотидная последовательность 4-1BB (внутриклеточный домен)  
AAGCGCGGCAGGAAGAAGCTCCTCTACATTTTTAAGCAGCCTTTT  
10 ATGAGGCCCGTACAGACAACACAGGAGGAAGATGGCTGTAGCTG  
CAGATTTCCCGAGGAGGAGGAAGGTGGGTGCGAGCTG (SEQ ID  
NO. 141)
- [000398] AK 4-1BB (внутриклеточный домен)  
KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID  
15 NO. 142)
- [000399] AK OX40  
RRDQRLPPDАНKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO.  
143)
- [000400] AK лидерной последовательности  
20 MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 144)



## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Химерный антигенный рецептор, который связывается с лектиноподобным белком-1 С-типа («CLL-1»), где указанный химерный антигенный рецептор представляет собой полипептид, содержащий одноцепочечный вариабельный фрагмент Fv (scFv), который связывает CLL-1, трансмембранный домен, внеклеточный домен и внутриклеточный активирующий домен, который представляет собой активирующий домен из CD3 дзета, и где scFv содержит пару вариабельной области тяжелой цепи (VH) и вариабельной области легкой цепи (VL), которая выбрана из группы, состоящей из:

(a) области VH, содержащей определяющие комплементарности участки («CDR») 1, 2 и 3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74 и SEQ ID NO: 75, соответственно, и области VL, содержащей CDR 1, 2 и 3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79 и SEQ ID NO: 80, соответственно; и

(b) области VH, содержащей CDR 1, 2 и 3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно, и области VL, содержащей CDR 1, 2 и 3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 101 и SEQ ID NO: 102, соответственно.

2. Химерный антигенный рецептор по п.1, отличающийся тем, что активирующий домен CD3 дзета содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

3. Химерный антигенный рецептор по п.1, дополнительно включающий по меньшей мере один сигнальный участок костимулирующего домена.

4. Химерный антигенный рецептор по п.3, отличающийся тем, что сигнальный участок костимулирующего домена представляет собой сигнальный участок CD28, OX-40, 4-1BB/CD137, CD27 или ICOS.

5. Химерный антигенный рецептор по п.4, отличающийся тем, что сигнальный участок костимулирующего домена содержит SEQ ID NO: 8.

6. Химерный антигенный рецептор по п.5, отличающийся тем, что указанный химерный антигенный рецептор содержит SEQ ID NO: 2.

7. Химерный антигенный рецептор по п.1, отличающийся тем, что указанный трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен CD28 или CD8.

8. Химерный антигенный рецептор по п.7, отличающийся тем, что трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен CD28, который содержит SEQ ID NO: 6.

9. Химерный антигенный рецептор по п.1, отличающийся тем, что указанный химерный антигенный рецептор содержит: (а) внеклеточный и трансмембранный домен CD28, указанные в SEQ ID NO: 2, или (b) внеклеточный и трансмембранный домен CD8, указанные в SEQ ID NO: 14.

10. Химерный антигенный рецептор по п.1, отличающийся тем, что линкер scFv содержит по меньшей мере одну из SEQ ID NO: 130 или SEQ ID NO: 132.

11. Химерный антигенный рецептор по п.1, отличающийся тем, что scFv содержит:

(а) область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; или

(b) область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99.

12. Химерный антигенный рецептор, который связывается с лектиноподобным белком 1 С-типа («CLL-1»), где указанный химерный антигенный рецептор представляет собой полипептид, содержащий одноцепочечный переменный фрагмент Fv («scFv»), который связывает CLL-1, трансмембранный домен и внутриклеточный активирующий домен, который представляет собой активирующий домен из CD3 дзета, и где scFv содержит пару переменной области тяжелой цепи (VH) и переменной области легкой цепи (VL), которая выбрана из группы, состоящей из:

(а) области VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72, и области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; и

(b) области VH, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и области VL, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99.

13. Выделенный полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор по любому из пп. п.1 - 12.

14. Вектор для экспрессии химерного антигенного рецептора по любому из пп. 1 - 12 в клетке, содержащий полинуклеотид по п.13.

15. Вектор по п.14, который представляет собой ретровирусный вектор, ДНК-вектор, плазмиду, РНК-вектор, вектор на основе аденовируса, вектор на основе аденоассоциированного вируса или лентивирусный вектор.

16. Клетка иммунной системы для экспрессии химерного антигенного рецептора по любому из пп. 1 - 12, содержащая вектор по п.14, причём указанная клетка иммунной системы представляет собой Т-клетку.

17. Клетка иммунной системы по п.16, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой аутологичную Т-клетку.

18. Клетка иммунной системы по п.16, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой аллогенную Т-клетку.

19. Фармацевтическая композиция, содержащая Т-клетку по п.17 или п. 18 и фармацевтически приемлемый носитель для лечения заболевания или расстройства, связанного с CLL-1.

20. Полипептид химерного антигенного рецептора, который связывается с лектиноподобным белком 1 С-типа («CLL-1») по п.1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из: SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, и SEQ ID NO: 126.

21. Выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид химерного антигенного рецептора по п.1, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, выбранную из: SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 121, и SEQ ID NO: 125.

22. Вектор для экспрессии полипептида по п.20 в клетке, содержащий полинуклеотид по п.21.

23. Вектор по п.22, который представляет собой ретровирусный вектор, ДНК-вектор, плазмиду, РНК-вектор, вектор на основе аденовируса, вектор на основе аденоассоциированного вируса или лентивирусный вектор.

24. Клетка иммунной системы для экспрессии полипептида по п.20, содержащая вектор по п.22, причём указанная клетка иммунной системы представляет собой Т-клетку.

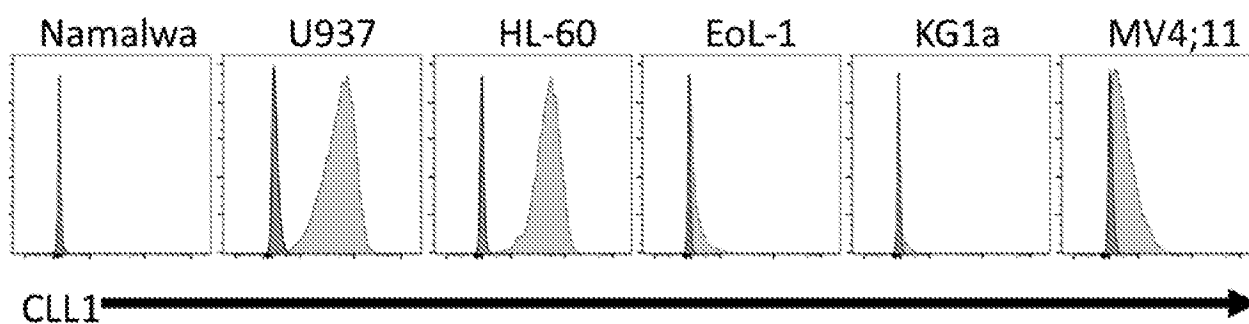
25. Клетка иммунной системы по п.24, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой аутологичную Т-клетку.

26. Клетка иммунной системы по п.24, отличающаяся тем, что указанная клетка представляет собой аллогенную Т-клетку.

27. Фармацевтическая композиция, содержащая Т-клетку по любому из пп. 24 – 26 и фармацевтически приемлемый носитель, для лечения заболевания или расстройства, связанного с CLL-1.

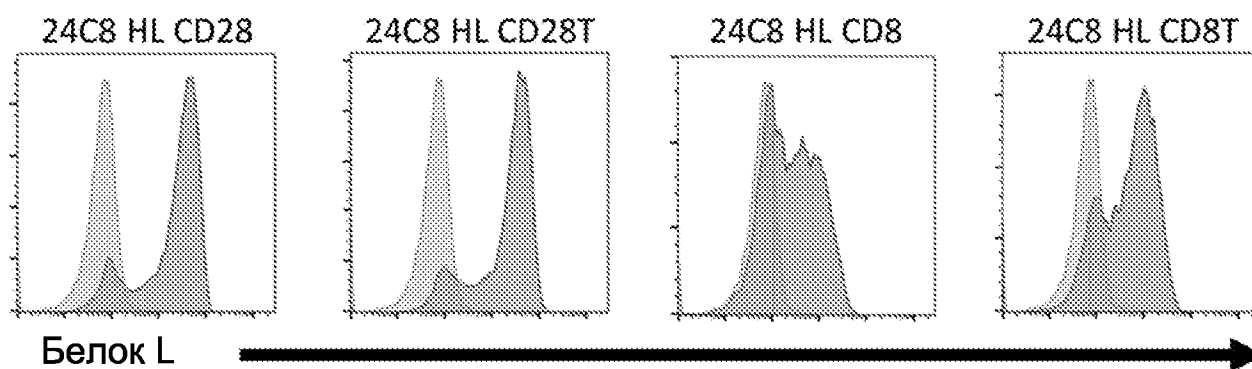
28. Способ лечения опухоли или злокачественного новообразования, которые экспрессируют лектиноподобный белок 1 С-типа («CLL-1»), причем указанный способ включает введение фармацевтической композиции по п.27 человеку с опухолью или злокачественным новообразованием, которые экспрессируют CLL- 1.

Экспрессия CLL-1 в различных линиях  
раковых клеток



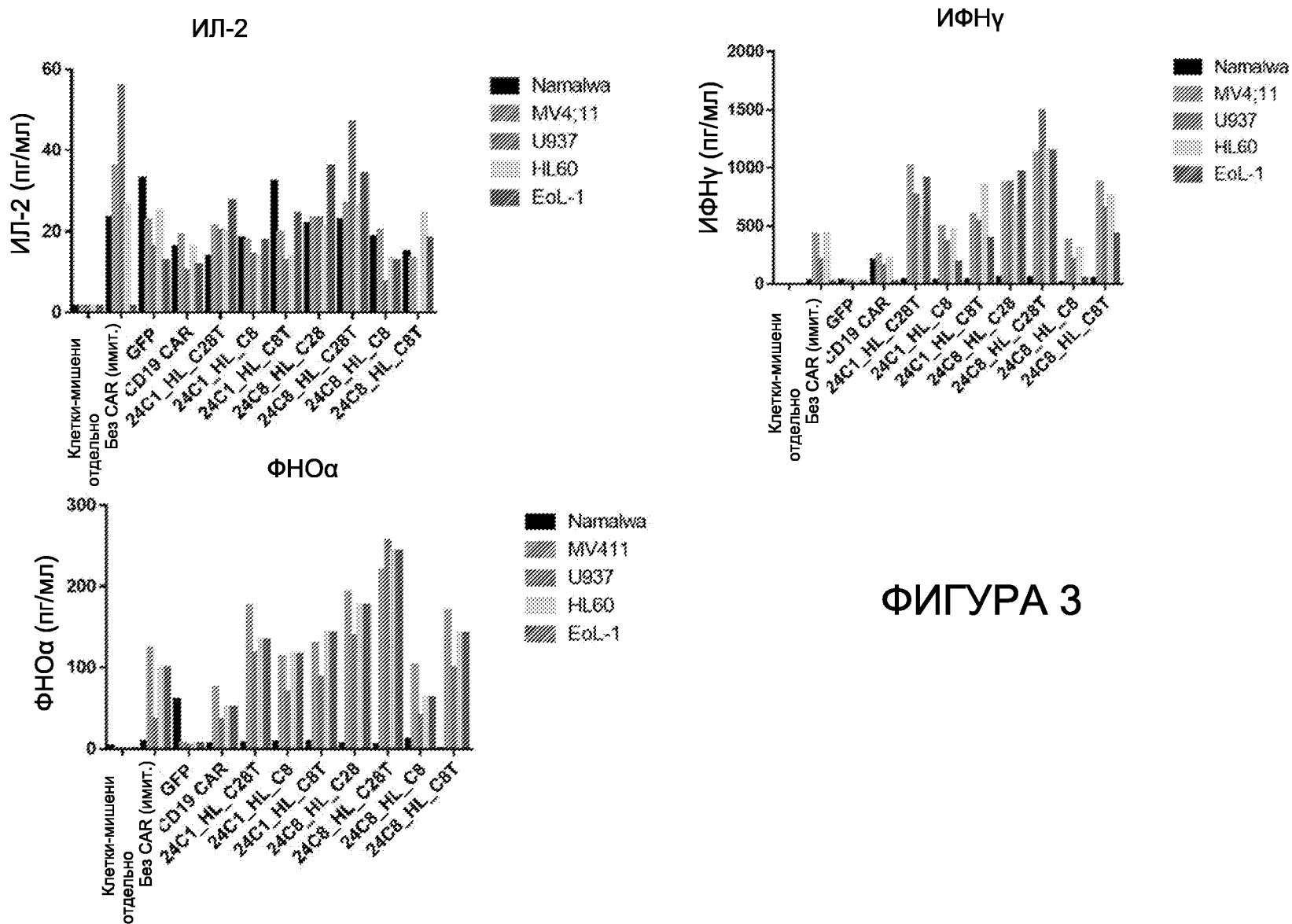
ФИГУРА 1

Экспрессия CAR против CLL-1, определяемая по белку L, через 6 ч после электропорации мРНК



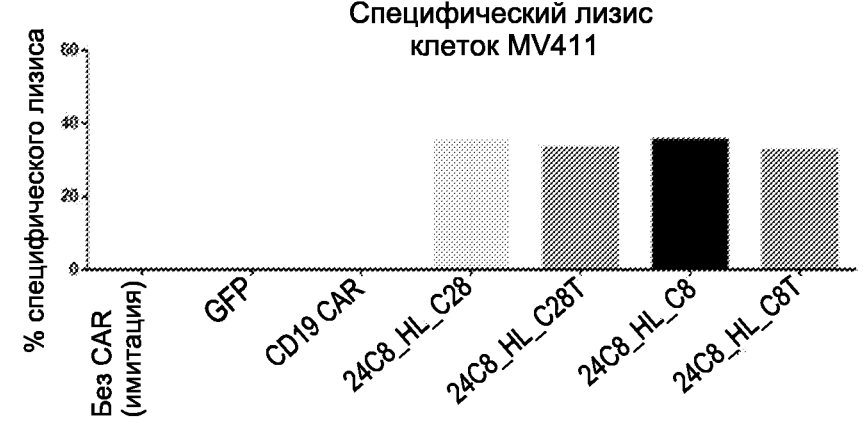
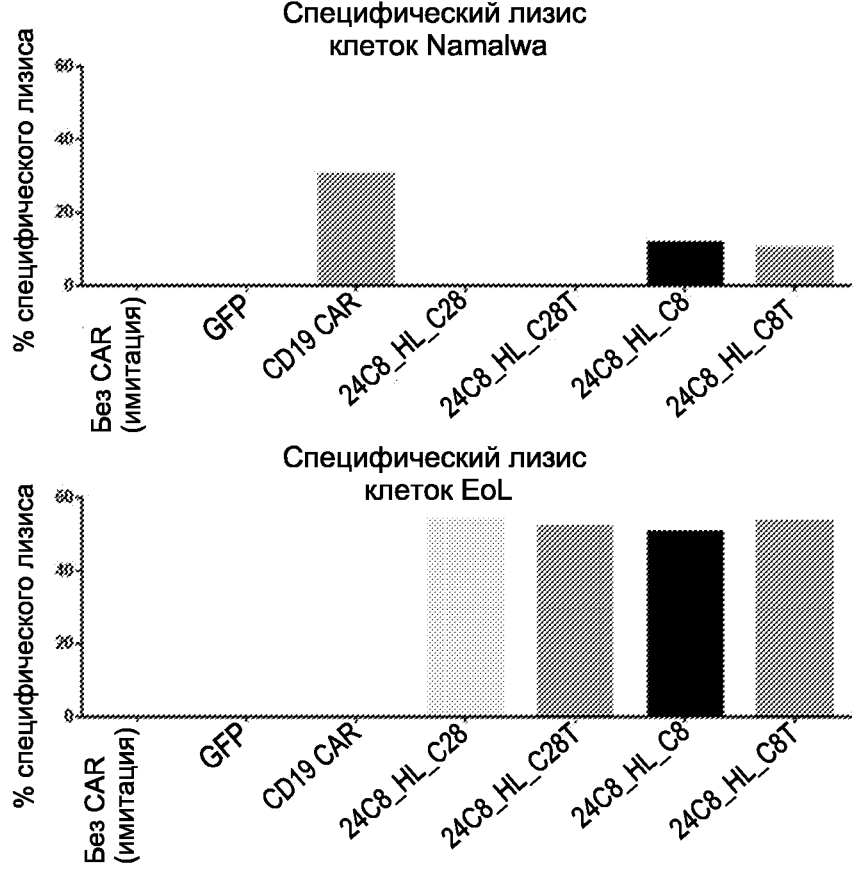
ФИГУРА 2

Анализ высвобождения цитокинов из различных сконструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, через 24 ч после электропорации мРНК



ФИГУРА 3

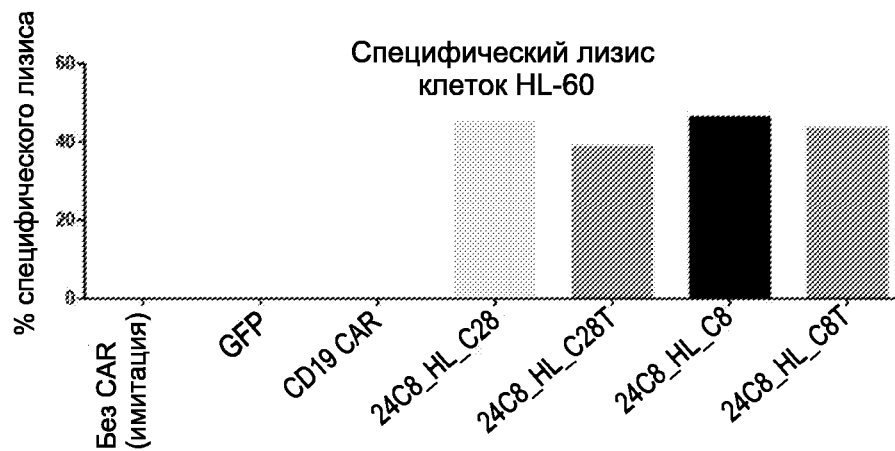
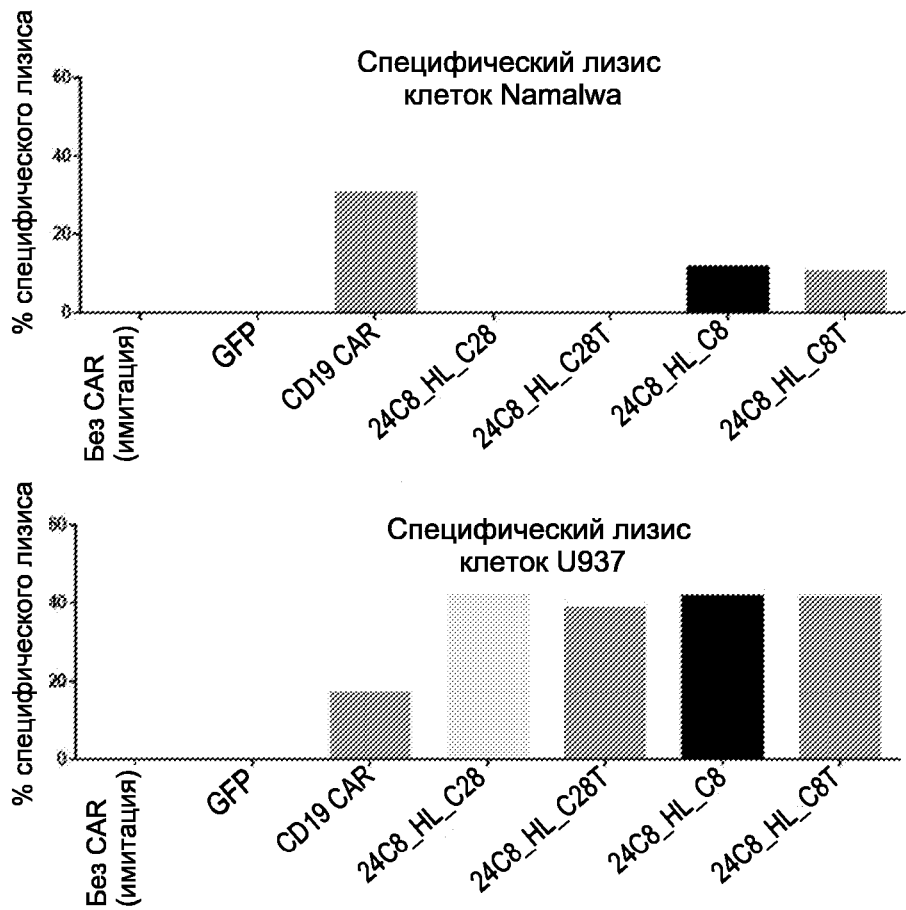
Анализ высвобождения цитокинов из различных сконструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, через 24 ч после электропорации мРНК



ФИГУРА 4



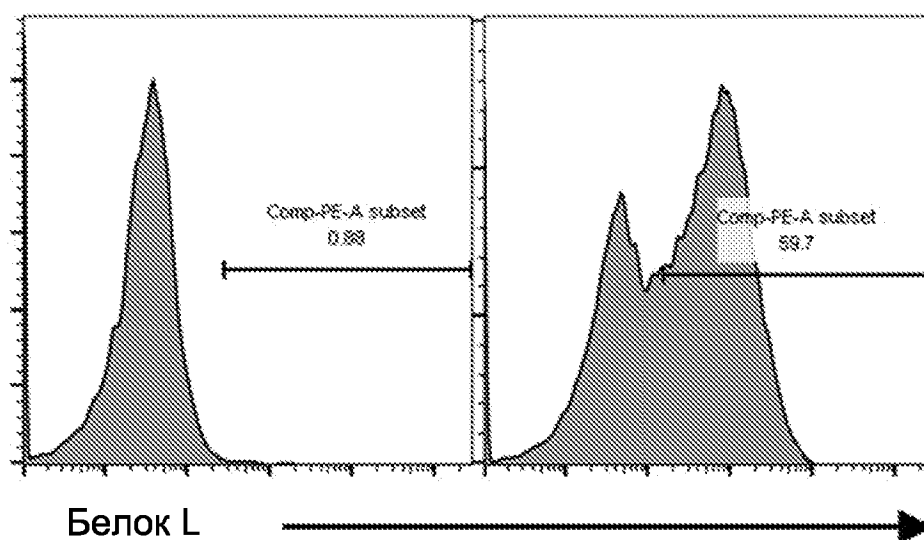
Цитолитическая активность различных конструированных Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, через 24 ч после электропорации мРНК



5/11

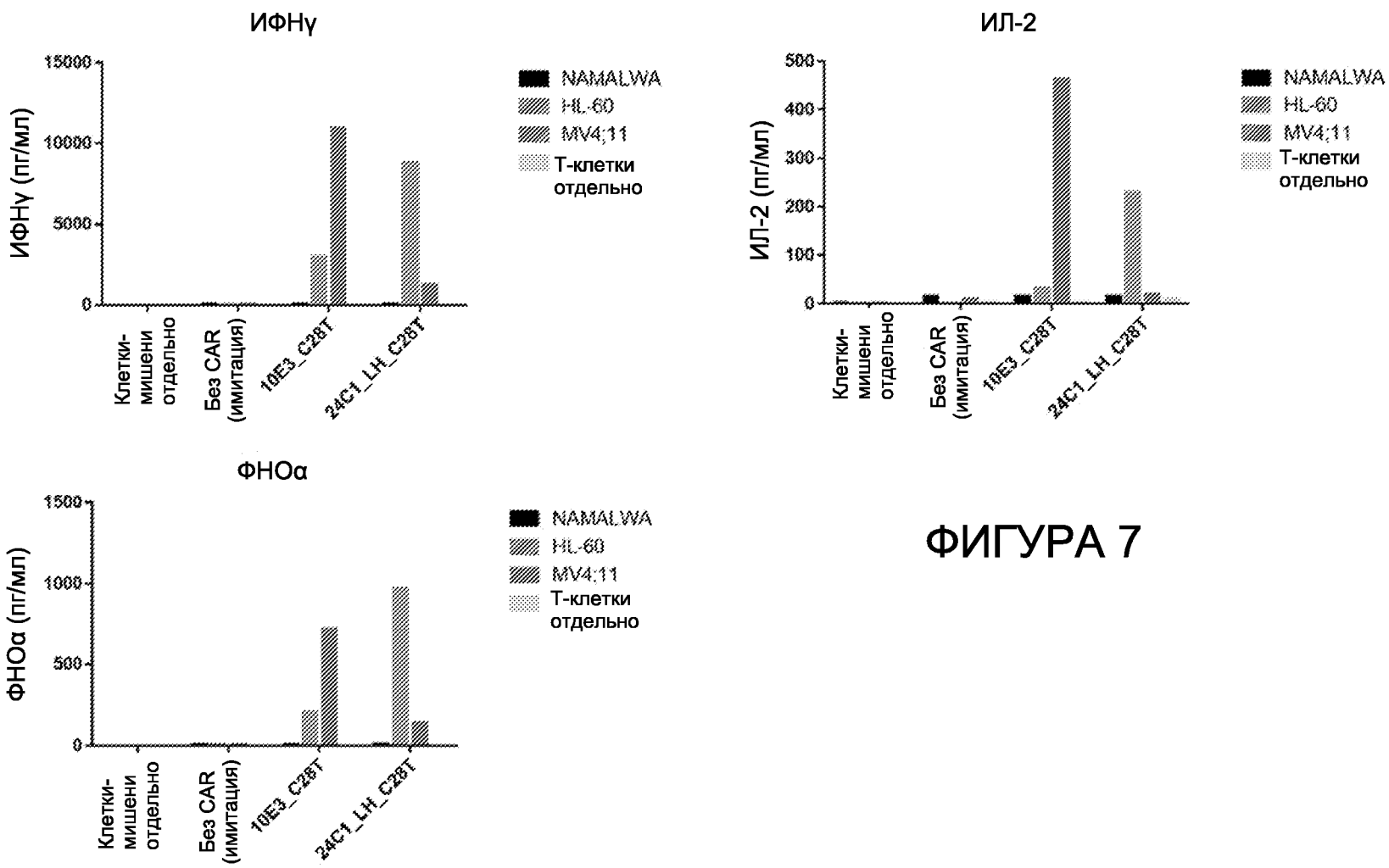
ФИГУРА 5

Экспрессия CLL-1, определяемая по белку L, на 12 день после трансдукции



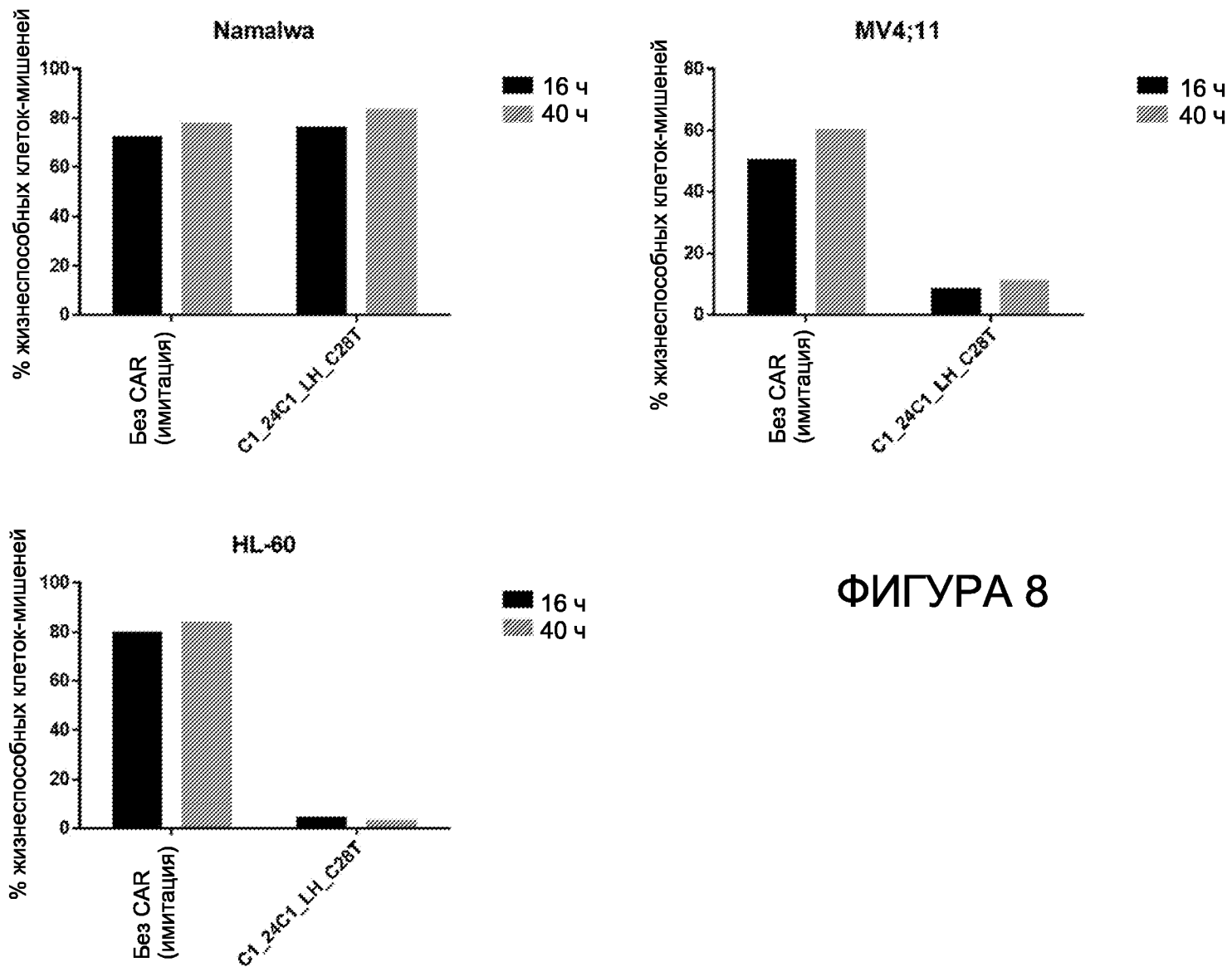
ФИГУРА 6

Анализ высвобождения цитокинов из Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, после совместного культивирования в течение 16 ч с различными линиями клеток-мишеней



ФИГУРА 7

Цитолитическая активность Т-клеток, экспрессирующих CAR против CLL-1, после совместного культивирования в течение 16 ч и 40 ч с различными линиями клеток-мишеней



ФИГУРА 8

## ФИГУРА 9А – Связывающие молекулы против CLL-1

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
24C1_VH	QVQLQESGFGFLVKPSETLSLTCTVSSGGSISS--- <td></td> <td></td> <td></td>			
24C8_VH	QVQLQESGFGFLVKPSETLSLTCTVSSGGSISSGGFYYSWIRQHPFGKLEWIGYIYHSGS--T			
20C5.1_VH	QVQLVQSGAEVKKPKGASVKVSKVSGYTLT--ELSMHWVRQAPFGKLEWGGGFDPEDEGET			
20C5.2_VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGETFSS---YCMHWVRQAPFGKLEWVAVISYDESEK			
	**** :** : !* . : : * . * : : :		* : ** ***** : . : . . . *	
		FR3	CDR3	FR4
24C1_VH	NYNPSLKSRTVISVDTSKNQPSLKLSSVTAADTAVYYCVSLVYCGGDCYSGFDYWGQGTLL			
24C8_VH	HYNPSLKSRTVISIDTSKNLESLRLSSVTAADTAVYYCASLVYCGGDCYSGFDYWGQGTLL			
20C5.1_VH	IYAQKFQGRVTVTEDTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCATESRGIG---WPFYFDYWGQGTLL			
20C5.2_VH	YYVDSVKGRFTISRDNLSKNLILQMNSLRAEDTAVYYCARERYSG-----RDYWGQGTLL			
	* . . . * . * : : * . * . : : . . . * : : *****			*****
	FR4			
24C1_VH	VTVSS			
24C8_VH	VTVSS			
20C5.1_VH	VTVSS			
20C5.2_VH	VTVSS			
	*****			

## ФИГУРА 9В

	SEQ ID NO:			
	VH	CDR1	CDR2	CDR3
24C1_VH	16	17	18	19
24C8_VH	50	51	52	53
20C5.1_VH	72	73	74	75
20C5.2_VH	94	95	96	97

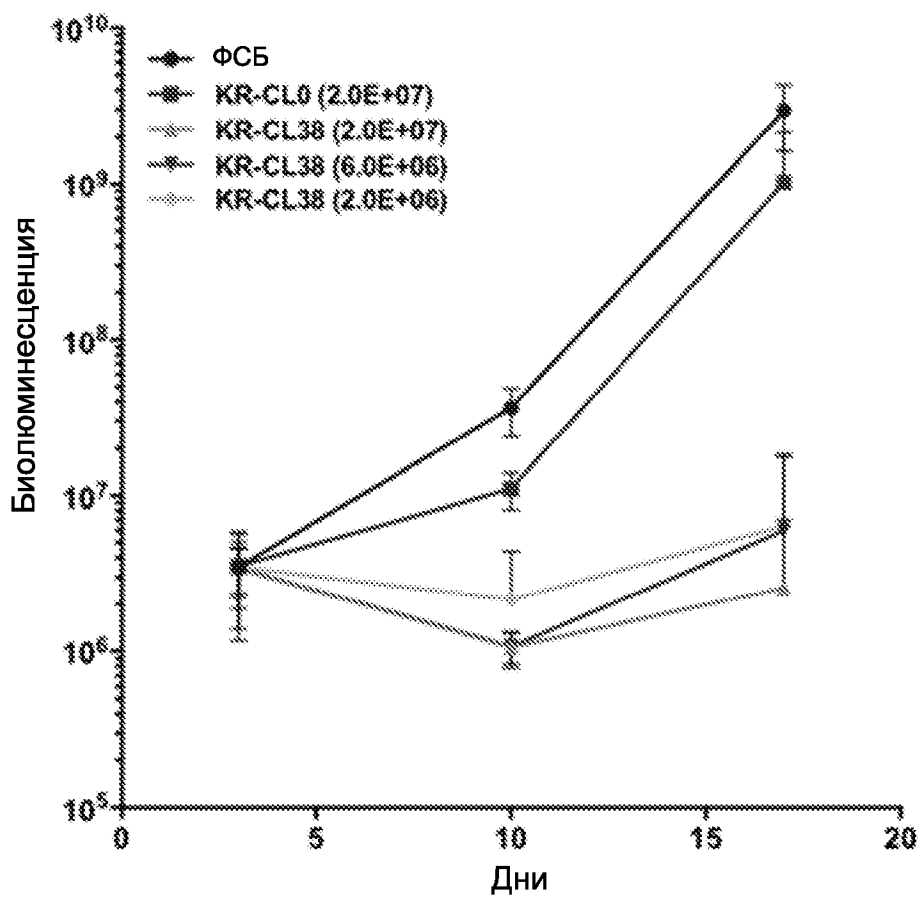
## ФИГУРА 9C – Связывающие молекулы против CLL-1

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3
24C1_VL	DIQLTQSPSSLSASVGDVRSFTQQASQDINNFLN	WYQQKPGKAPKLLIY	DASNLET	GVPS	
24C8_VL	DIQLTQSPSSLSASVGDVRSFTQQASQDINNFLN	WYQQKPGKAPKLLIY	DASNLET	GVPS	
20C5.1_VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRSFTITCRASQSISSYL	NWYQQKPGKAPKLLIS	GASSLKS	GVPS	
20C5.2_VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSLLT	WYQQKPGQAPRLLI	FEASTRAT	SIPA	
	:* :****:*. * *:*:..:..:..* .*****:***:***	..*	..*	..*	:*:*:
	FR3	CDR3	FR4		
24C1_VL	RFSGSGSGTDFTFTLSSLPEDIATYYCQQYGNLP	FTFGGGTKVEIKR			
24C8_VL	RFSGSGSGTDFTFTLSSLPEDIATYYCQQYGNLP	FTFGGGTKVEIKR			
20C5.1_VL	RFSGSGSGTDFTLTISSLPPEDFATYYCQQSYSTP	ITFGQSTRLEIKR			
20C5.2_VL	RFSGSGSGTFTLTISSLQSEDEAVYYCQQYDTWF	ETFGPGTKVDFKR			
	*****:***:***** .***:***** .***:*****	..***	..***	..***	:*:*:

## ФИГУРА 9D

	SEQ ID NO:			
	VL	CDR1	CDR2	CDR3
24C1_VL	21	22	23	24
24C8_VL	55	56	57	58
20C5.1_VL	77	78	79	80
20C5.2_VL	99	100	101	102

ФИГУРА 10



**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:  
**202291259**

**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**  
См. дополнительный лист

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)  
А61К 38/17, 39/00, 38/16, С07К 14/00, С12N 15/00, 15/62, 15/63, 5/0783, А61Р 35/00, С07К 14/705, 14/725

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
Espacenet, ЕАПАТИС, ЕРОQUE Net, Reaxys, Google

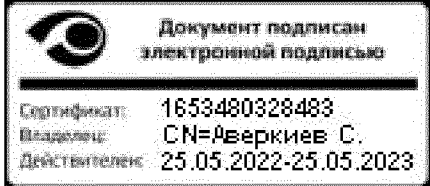
**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2016/014535 A1 (NOVARTIS AG et al.) 28.01.2016	1-28
A	WO 2013/169625 A1 (CELLERANT THERAPEUTICS, INC) 14.11.2013	1-12, 28
A	WO 2015/142675 A2 (NOVARTIS AG et al.) 24.09.2015	1-28
A	HORNICK Jason L. et al. Chimeric CLL-1 Antibody Fusion Proteins Containing Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor or Interleukin-2 With Specificity for B-Cell Malignancies Exhibit Enhanced Effector Functions While Retaining Tumor Targeting Properties. Blood, 1997, Vol. 89, No. 12, pp. 4437-4447	1-28

последующие документы указаны в продолжении

<p>* Особые категории ссылочных документов: «А» - документ, определяющий общий уровень техники «D» - документ, приведенный в евразийской заявке «Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее «О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д. "Р" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"</p>	<p>«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения «Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности «У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории «&amp;» - документ, являющийся патентом-аналогом «L» - документ, приведенный в других целях</p>
--	--

Дата проведения патентного поиска: 31 октября 2022 (31.10.2022)

<p>Уполномоченное лицо: Начальник Управления экспертизы</p>	 <p>Документ подписан электронной подписью</p> <p>Сертификат: 1653480328483 Владелец: СN=Аверкиев С. Действителен: 25.05.2022-25.05.2023</p>	<p>С.Е. Аверкиев</p>
---	--	----------------------



**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
**(дополнительный лист)**

Номер евразийской заявки:

**202291259**

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

A61K 38/17 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01)  
C12N 15/62 (2006.01)  
C12N 15/63 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
C12N 5/0783 (2010.01)  
C07K 14/705 (2006.01)  
C07K 14/725 (2006.01)