



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.22(51) Int. Cl. *A61K 38/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2021.03.16

(54) НОВЫЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ И ВКЛЮЧАЮЩИЕ ИХ СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

(31) 62/990,396

(72) Изобретатель:

(32) 2020.03.16

Чаудхари Преег М. (US)

(33) US

(86) PCT/US2021/022641

(74) Представитель:

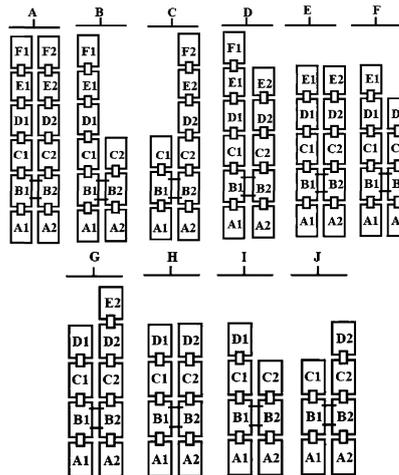
(87) WO 2021/188599 2021.09.23

Фелицына С.Б. (RU)

(71) Заявитель:

ЮНИВЕРСИТИ ОФ САТЕРН
КАЛИФОРНИЯ (US)

(57) Изобретение относится к композициям и способам получения синтетических антигенных рецепторов или SAR (англ. synthetic antigen receptors) (например, SIR, zSIR, cTCR, ab-TCR, AABD-TCR, TFP, TAC и т.п.) и антител (например, биспецифичных антител, DART и т.п.), включающих один или несколько новых антигенсвязывающих доменов. SAR, как описано, включают одноцепочечные иммунные рецепторы (например, химерные антигенные рецепторы 1, 2 и 3-го поколения, TFP, Tri-TAC и т.п.) и многоцепочечные иммунные рецепторы (например, SIR, zSIR, cTCR, ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP, рекомбинантные TCR и т.п.). SAR способны перенаправлять специфичность и реактивность иммунных клеток на одну или несколько выбранных мишеней, используя свойства антигенсвязывающего домена.



A1/A2 = домен константной цепи TCR, содержащий соединяющий петли (Таблица 14), трансмембранный (Таблица 15) и цитозольный домен (Таблица 16)
B1/B2 = Ig-подобный линкерный домен (например, IgCL, IgG1-CN1, TCR α -Ig-подобный-C1-Домен-6MD и т.п.; см. Таблицу 13)
C1/C2 = $\nu\lambda$, VH, Va, Vb, Vg, Vd
D1/D2 = AABD
E1/E2 = AABD
F1/F2=AABD

НОВЫЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ДОМЕНЫ И ВКЛЮЧАЮЩИЕ ИХ СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Перекрестная ссылка на связанные заявки

Эта заявка заявляет приоритет в соответствии с 35 U.S.C. §119 предварительной заявки с серийным номером 62/990,396, поданной 16 марта 2020 г., описание которой включено в настоящую заявку ссылкой.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее раскрытие относится к композициям и способам получения синтетических антигенных рецепторов или SAR (англ. synthetic antigen receptors) (например, SIR, zSIR, cTCR, ab-TCR, AABD-TCR, TFP, TAC и т.п.) и антител (например, биспецифичных антител, DART и т.п.), включающих один или несколько новых антигенсвязывающих доменов. SAR, как описано, включают одноцепочечные иммунные рецепторы (например, химерные антигенные рецепторы 1-го, 2-го и 3-го поколения, TFP, Tri-TAC и т.п.) и многоцепочечные иммунные рецепторы (например, SIR, zSIR, cTCR, ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP, рекомбинантные TCR и т.п.). SAR способны перенаправлять специфичность и реактивность иммунных клеток на одну или несколько выбранных мишеней, используя свойства антигенсвязывающего домена. SAR, как описано в настоящей заявке, при экспрессии в иммунных клетках придают им способность распознавать антиген-мишень МНС-зависимым или МНС-независимым образом. В раскрытии описана подходящая конфигурация SAR с двумя или более антигенсвязывающими доменами. В раскрытии описаны полезные антигенсвязывающие домены, полезные конфигурации таких антигенсвязывающих доменов и векторные конструкции для конструирования моноспецифичных, биспецифичных и/или мультиспецифичных SAR. В раскрытии также описаны новые способы выбора оптимальных антигенсвязывающих доменов для включения в SAR. Изобретение также относится к улучшению качества Т-клеток, экспрессирующих SAR, путем их размножения в присутствии миметика SMAC и/или агониста NIK. В раскрытии также описаны способы изготовления SAR с применением устройства или контейнера, содержащего газопроницаемую мембрану, в нормоксических и гипоксических условиях. Типичным устройством с газопроницаемой мембраной является флакон GRex. В раскрытии также описаны новые метки, которые можно добавлять к SAR-конструкции и использовать для идентификации, выделения и элиминации клеток, экспрессирующих SAR. В раскрытии также предложено применение термостабильных люцифераз

(например, люциферазы *Photinus pyralis* (LucPpy) и *Photuris pennsylvanica* (LucPpe)) для биолюминесцентной визуализации *in vivo*. В раскрытии также предлагаются новые антигенсвязывающие домены и SAR, включающие их.

Включение перечня последовательностей ссылкой

К этой заявке прилагается Список последовательностей под названием «Sequence-Listing_ST25.txt», созданный 16 марта 2021 г. и содержащий 101 792 917 байт данных, отформатированный в операционной системе IBM-PC, MS-Windows. Перечень последовательностей включен в данном документе ссылкой во всей своей полноте для всех целей.

Предшествующий уровень техники

CAR представляют собой синтетические иммунные рецепторы, которые могут перенаправлять Т-клетки на избирательное уничтожение опухолевых клеток. В отличие от физиологических Т-клеточных рецепторов (TCR), которые взаимодействуют с комплексами HLA-пептид, CAR взаимодействуют с молекулами, для распознавания которых не требуется пептидный процессинг или экспрессия HLA. Первоначальные CAR первого поколения были сконструированы путем объединения антигенсвязывающего домена на основе scFv (одноцепочечный вариабельный фрагмент) с инертным трансмембранным доменом CD8, связанным с цитоплазматическим сигнальным доменом, полученным из γ -цепей рецептора CD3- ζ или Fc. Чтобы преодолеть недостаток активации Т-клеток, CAR первого поколения были дополнительно модифицированы путем включения цитоплазматических сигнальных доменов активаторных рецепторов Т-клеток.

Несмотря на успех с CAR-Т-клетками, у этого подхода есть несколько ограничений, в том числе токсичность, такая как «синдром высвобождения цитокинов» (СВЦ) и нейротоксичность. Включение активизирующего домена в конструкцию CAR приводит к нефизиологической тонической передаче сигналов через рецептор, что, в свою очередь, может способствовать их токсичности и отсутствию стойкости. CAR-Т, которые имеют scFv в качестве своего антигенсвязывающего домена, также могут образовывать кластеры на мембране из-за перекрестного связывания тяжелых и легких цепей различных SAR-Т, что приводит к тонической передаче сигнала. Кроме того, scFv, используемые в CAR-Т, также обычно получают из mAb мыши и, таким образом, имеют потенциальные проблемы с иммуногенностью. Безотносительно к теории считаем, что эти проблемы, вероятно, будут усугубляться, когда scFv используются для конструирования CAR-Т, имеющих биспецифичные, мультиспецифичные, двухвалентные или бипаратопные антигенсвязывающие фрагменты.

Чтобы преодолеть некоторые ограничения дизайна обычных CAR 2-го поколения, было описано несколько альтернативных дизайнов, которые вместе называются CAR следующего поколения, включая Ab-TCR (WO 2017/070608 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой), гибридные белки рецептора TCR или TFP (WO 2016/187349 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой), синтетические иммунные рецепторы (SIR) (см. WO 2018/102795 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой), трифункциональный соединитель T-клеточного антигена (Tri-TAC) (см. WO 2015/ 117229 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой) и zSIR (см. WO 2019232503, включенный в настоящую заявку ссылкой). Платформа AABD-TCR описана в этом раскрытии. В этих альтернативных конструкциях CAR, как правило, отсутствует костимулирующий домен. Эти альтернативные конструкции CAR могут включать одну цепь (например, одноцепочечный SIR или ϵ TFP, γ TFP и δ TFP) или несколько цепей (например, двухцепочечный SIR, cTCR, zSIR, $\alpha\beta$ TFP и $\gamma\delta$ TFP). Однако проблема неспецифической агрегации цепей scFv и получаемая в результате передача сигналов тонуса также влияет на конструкции CAR следующего поколения, которые включают цепь(и) scFv для связывания антигена. Эта проблема дополнительно усугубляется, когда фрагмент scFv используется для конструирования многоцепочечных синтетических антигенных рецепторов, таких как SIR, cTCR, Ab-TCR, имеющих биспецифичные, бивалентные, бипаратопные, мультиспецифичные, мультивалентные или мультипаратопные антигенсвязывающие фрагменты.

В настоящем раскрытии предлагается решение вышеуказанных проблем посредством конструирования синтетических антигенных рецепторов (SAR). Термин «синтетический антигенный рецептор» (SAR), как описано в настоящей заявке, включает рецепторы со каркасом одноцепочечных иммунных рецепторов (например, химерные антигенные рецепторы 1-го, 2-го и 3-го поколения, TFP, Tri-TAC и т.п.) и многоцепочечные иммунные рецепторы (например, SIR, zSIR, cTCR, ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP, рекомбинантный TCR и HLA-независимый TCR и т.п.).

Сущность изобретения

В раскрытии описаны композиции и конфигурация для изготовления синтетического антигенного рецептора (SAR). В одном воплощении SAR содержит полипептид, содержащий два или более антигенсвязывающих домена. В другом воплощении SAR содержит полипептид, который связывается с двумя или более антигенами. В еще одном воплощении SAR содержит полипептид, который связывается с двумя или более эпитопами одного или более антигенов.

В одном воплощении в раскрытии предлагается полинуклеотид SAR, который

кодирует полипептид, содержащий автономный антигенсвязывающий домен (англ. *autonomous antigen binding domain*, AABD) или его фрагмент, присоединенный в рамке считывания к домену *vL*, *vH*, *Va*, *Vb*, *Vg*, *Vd*, *Ig*-домену, *Ig*-подобному домену или их комбинации через один или несколько необязательных линкеров. В одном воплощении AABD представляет собой любой домен, который может связывать антиген автономным образом, т.е. в отсутствие другого домена. В одном воплощении AABD представляет собой домен, отличный от *scFv*. В одном воплощении AABD не содержит фрагментов *vL* и *vH*, которые образуют домен *Fv*. В примерном воплощении AABD представляет собой *vHH*, антитело с одним переменным доменом, *FHvH* (полностью человеческий домен *vH*, англ. *fully human vH domain*), *SVH* (одиночный домен *vH*, англ. *single vH domain*), *SVL* (одиночный домен *vL*, англ. *single vL domain*), неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов (например, центирин, аффибоди, дарпин, *D*-домен и т.п.), лиганд-связывающий домен рецептора, рецептор-связывающий домен лиганда, аутоантиген, адаптор-связывающий домен, эпитоп, мимеотоп, одиночный переменный домен Т-клеточного рецептора (*svd*-TCR) или их фрагмент.

В одном воплощении в раскрытии предлагается полинуклеотид SAR, который кодирует полипептид, содержащий по меньшей мере один автономный антигенсвязывающий домен или его фрагмент, присоединенный в рамке считывания к домену *vL*, *vH*, *Va*, *Vb*, *Vg*, *Vd*, *Ig*, *Ig*-подобному домену или их комбинации через один или несколько необязательных линкеров. В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, который содержит более одного автономного антигенсвязывающего домена, которые связаны в рамке считывания с помощью необязательных линкеров.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует по меньшей мере один полипептид, который содержит один или несколько автономных антигенсвязывающих доменов или их фрагментов, присоединенных в рамке считывания к первому модулю, содержащему домен *vL*, *vH*, *Va*, *Vb*, *Vg*, *Vd*, *Ig*, или *Ig*-подобный домен или их комбинация через один или несколько необязательных доменов, и где первый модуль соединен через необязательный линкер со вторым модулем, который содержит трансмембранный домен. В воплощении необязательный домен представляет собой линкерный домен. В одном воплощении второй модуль содержит соединительный пептид, трансмембранный домен и внутриклеточный домен. В одном воплощении второй модуль содержит константную цепь TCR или ее фрагмент. В одном воплощении второй модуль содержит константную цепь TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α или их фрагмент.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, содержащий автономный антигенсвязывающий домен, присоединенный в рамке считывания к полипептиду, содержащему трансмембранный домен, посредством необязательного домена. В одном воплощении необязательный домен представляет собой соединительный пептид. В одном воплощении трансмембранный домен принадлежит константной цепи Т-клеточного рецептора (например, константной цепи TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ , pretc.R- α и т.п.). В одном воплощении соединительный пептид принадлежит к константной цепи Т-клеточного рецептора (например, соединительному пептиду TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ , pretc.R- α и т.п.).

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, содержащий автономный антигенсвязывающий домен, присоединенный в рамке считывания к полипептиду, содержащему соединительный пептид и трансмембранный домен. В одном воплощении трансмембранный домен принадлежит константной цепи Т-клеточного рецептора (например, константной цепи TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ , pretc.R- α и т.п.). В одном воплощении соединительный пептид принадлежит к константной цепи Т-клеточного рецептора (например, соединительному пептиду TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ , pretc.R- α и т.п.).

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, который содержит автономный антигенсвязывающий домен или его фрагмент, присоединенный в рамке считывания к N-концу или вблизи N-конца домена vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd, Ig, Ig-подобного домена или их комбинации через один или несколько необязательных доменов. В воплощении необязательные домены представляют собой линкерные домены.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, который содержит один или несколько автономных антигенсвязывающих доменов или их фрагментов, соединенных в рамке считывания с N-концом или вблизи N-конца модуля, содержащего домен vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd, Ig, Ig-подобный домен или их комбинацию через один или несколько необязательных доменов. В воплощении необязательный домен представляет собой линкерный домен.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует по меньшей мере один полипептид, который содержит один или несколько автономных антигенсвязывающих доменов или их фрагментов, соединенных в рамке считывания с N-концом или вблизи N-конца первого модуля, содержащего домен vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd, Ig или Ig-подобный домен или их комбинацию через один или несколько необязательных доменов, и где первый модуль соединен через необязательный линкер со вторым модулем, который содержит трансмембранный домен. В воплощении необязательный домен представляет

собой линкерный домен. В одном воплощении второй модуль содержит соединительный пептид, трансмембранный домен и внутриклеточный домен. В другом воплощении второй модуль содержит константную цепь TCR или ее фрагмент. В одном воплощении второй модуль содержит константную цепь TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α или их фрагмент.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует две полипептидные цепи, каждая из которых содержит 0, 1, 2 или более автономных антигенсвязывающих доменов или их фрагментов, которые соединены в рамке считывания с N-концом или вблизи N-конца первого модуля, содержащий vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd, Ig-домен или Ig-подобный домен или их комбинацию через один или несколько необязательных доменов, и где первый модуль соединен через необязательный линкер со вторым модулем, который содержит соединительный пептид, трансмембранный домен и необязательный внутриклеточный домен, и где первая полипептидная цепь и вторая полипептидная цепь образуют модуль Т-клеточного рецептора (англ. T cell receptor module, TCRM), который способен рекрутировать по меньшей мере один связанный с TCR сигнальный модуль при экспрессии в Т-клетке.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, который содержит автономный антигенсвязывающий домен, присоединенный в рамке считывания к полипептиду, который содержит шарнирный домен и трансмембранный домен.

В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует полипептид, который содержит автономный антигенсвязывающий домен или его фрагмент, соединенный в рамке с полипептидом, который содержит шарнирный домен, трансмембранный домен и один или несколько внутриклеточных сигнальных доменов. В одном воплощении внутриклеточный сигнальный домен содержит первичный домен активации. В одном воплощении внутриклеточный сигнальный домен содержит домен первичной активации и один или несколько костимулирующих доменов. В одном воплощении внутриклеточный сигнальный домен содержит один или несколько костимулирующих доменов. В одном воплощении во внутриклеточном сигнальном домене отсутствует домен активации. В одном воплощении внутриклеточный сигнальный домен содержит домен активации, содержащий один или несколько мотивов ITAM.

В раскрытии также предлагаются полинуклеотиды, кодирующие любой из SAR согласно изобретению, вместе с любым вспомогательным модулем. Последовательности нуклеиновых кислот примерных полинуклеотидов, кодирующих SAR, представлены в (таблицах 25-36 и 41-50). В некоторых воплощениях компоненты SAR и любые вспомогательные модули (например, терапевтические контроли) кодируются одной

молекулой полинуклеотида. В некоторых воплощениях два или несколько компонентов SAR (например, две цепи двухцепочечного SAR) и дополнительные модули кодируются отдельными полинуклеотидами.

В различных воплощениях полинуклеотидная(ые) молекула(ы), кодирующая SAR, описанный в настоящей заявке, содержит один или несколько антиген-специфичных кодирующих доменов, которые кодируют один или несколько антиген-специфичных доменов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) SAR содержит один или несколько фрагментов VL (или vL). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) SAR содержит один или несколько фрагментов VH (или vH). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) кодирует(ют) один или несколько scFV (или scFv), специфичных к антигенам на клетках-мишенях, таких как, например, раковые клетки. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) кодирует(ют) один или несколько Fv-фрагментов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный кодирующий домен кодирует один или несколько Fab-фрагментов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) SAR содержит один или несколько фрагментов (Fab')₂. В некоторых воплощениях антигенспецифичный кодирующий домен полинуклеотида SAR кодирует автономный антигенсвязывающий домен (AABD). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) одно или несколько однодоменных антител (англ. single domain antibodies, SDAB) или фрагментов антител, таких как, например, одиночный домен vH (SVH) или одиночный домен vL (SVL). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) одиночные домены vH, которые имеют полностью человеческое происхождение (т.е. FHVH). В некоторых воплощениях антигенспецифичный кодирующий домен полинуклеотида SAR кодирует один или несколько доменов VHH (vHH) верблюдовых. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) домены vHH, которые являются гуманизированными. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) переменные домены, полученные из рецепторов T-клеток (например, Va/V α , Vb/V β , Vg/V γ и Vd/V δ). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) одноцепочечный TCR (scTCR). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) TCR с одним переменным доменом (англ. single variable domain TCR,

svd-TCR). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) один или несколько лиганд-связывающих доменов рецепторов. В некоторых воплощениях изобретения антигенспецифичный кодирующий домен кодирует один или несколько неиммуноглобулиновых каркасов, таких как, например, дарпин, аффибоди, аффилин, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атимер, центирин, пронектин, антикалин, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo или домен D (домен $\alpha 3D$) и т.п. В некоторых воплощениях изобретения антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) один или несколько доменов связывания адаптера (например, RZIP, EZIP, E4, K4, NKG2D-AF, NKG2D-YA и т.п.). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) один или несколько Fc-связывающих доменов (например, Fc-связывающая область CD16, CD32 или CD64 и т.п.). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) один или несколько аутоантигенов. В некоторых воплощениях изобретения антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) одну или несколько эпитопных меток или мимеотопов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) один или несколько лиганд-связывающих доменов рецепторов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) кодирующий(ие) домен(ы) полинуклеотида SAR кодирует(ют) один или несколько рецепторсвязывающих доменов лигандов. В некоторых воплощениях антигенспецифичные кодирующие домены SAR содержат по меньшей мере один Fv (например, фрагменты vL и vH) и один или несколько AABD (например, SVH, SVL, vHH, svd-TCR, дарпин, аффибоди, центирин, D-домен, эпитоп, мимеотоп, EZIP, RZIP, E4, K4 и т.п.). В некоторых воплощениях антигенспецифичные кодирующие домены SAR содержат по меньшей мере одиночный переменный домен TCR (например, фрагменты Va/Vb или Vg/Vd TCR) и один или несколько AABD (например, SVH, SVL, FHVH, vHH, svd-TCR, дарпин, аффибоди, центирин, D-домен, эпитоп, мимеотоп, EZIP, RZIP, E4, K4 и т.п.). В одном воплощении антигенспецифичные кодирующие домены SAR содержат один или более чем один (например, 2, 3, 4, 5, 6 или более) AABD (например, SVH, SVL, vHH, FHVH, svd-TCR, дарпин, аффибоди, центирин, D-домен, эпитоп, мимеотоп, EZIP, RZIP, E4, K4 и т.п.). В одном воплощении SAR содержит AABD одного типа (например, два vHH, три дарпина, два центирина и т.п.). В одном воплощении полинуклеотид(ы) SAR кодирует(ют) AABD разных типов (например, один домен vHH и один домен дарпин; один домен дарпин, один домен vHH и один домен центирин и т.п.). В одном воплощении

полинуклеотид(ы) SAR кодируют AABD, которые являются полностью человеческими, гуманизированными, химерными или нечеловеческими по происхождению. В одном воплощении полинуклеотид(ы) SAR кодирует(ют) один или несколько пептидных линкеров. В одном воплощении полинуклеотид(ы) SAR кодирует(ют) один из более гибких линкеров (например, линкер Gly-Ser). В одном воплощении полинуклеотид(ы) SAR кодирует(ют) один или несколько линкеров, расщепляемых протеазами (например, линкеры, которые расщепляются клеточными протеазами, например, MMP14, например, линкер, кодируемый SEQ ID NO:1218). В одном воплощении полинуклеотид(ы) SAR кодирует(ют) один или несколько линкеров Ig или Ig-подобных линкеров. В одном воплощении полинуклеотид SAR кодирует одну или более чем одну цепь SAR. В одном воплощении две или более цепей SAR кодируются одним или более полинуклеотидами. В одном воплощении две или более цепей SAR кодируются полинуклеотидами, которые разделены расщепляемыми линкерами (например, P2A, T2A, F2A и т.п.), которым необязательно предшествуют нуклеотидные последовательности, кодирующие сайт расщепления фурином. В одном воплощении полинуклеотид(ы) SAR частично или полностью оптимизирован(ы) по кодонам.

В одном воплощении в раскрытии предлагается полипептид SAR, кодируемый любым из полинуклеотидов SAR, описанных в предыдущих разделах.

В некоторых воплощениях в настоящей заявке предлагаются полипептиды, содержащие любой из SAR раскрытия вместе с любым вспомогательным модулем. Аминокислотные последовательности примерных полипептидов SAR представлены в таблицах 25-36 и 41-50. В некоторых воплощениях два или несколько компонентов SAR и любые вспомогательные модули (например, терапевтические контроли) содержат одну молекулу полипептида. В некоторых воплощениях два или несколько компонентов SAR (например, две цепи двухцепочечного SAR) и вспомогательные модули содержат отдельные полипептиды. В различных воплощениях полипептид SAR содержит один или несколько антигенспецифичных доменов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) SAR содержит(ат) один или несколько фрагментов VL (или vL). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) SAR содержит(ат) один или несколько фрагментов VH (или vH). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) содержит(ат) один или несколько scFV (или scFv), специфичных к антигенам на клетках-мишенях, таких как, например, клетки рака. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) содержит(ат) один или несколько Fv-фрагментов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный домен содержит один или несколько Fab-фрагментов. В некоторых воплощениях

антигенспецифичный(ие) домен(ы) SAR содержит(ат) один или несколько фрагментов (Fab')₂. В некоторых воплощениях антигенспецифичный домен полипептида SAR содержит автономный антигенсвязывающий домен (AABD). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) одно или несколько однодоменных антител (SDAB) или фрагментов антител, таких как одиночный домен vH (SVH) или одиночный домен vL (SVL). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) одиночные домены vH, которые являются полностью человеческими по происхождению (т.е. англ. fully human in origin, FHvH). В некоторых воплощениях антигенспецифичный домен полипептида SAR содержит один или несколько доменов VHH (vHH) верблюдовых. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) домены vHH, которые являются гуманизированными. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) переменные домены, полученные из рецепторов Т-клеток (например, Va/V α , Vb/V β , Vg/V γ и Vd/V δ). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) одноцепочечный TCR (scTCR). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) TCR с одним переменным доменом (svd-TCR). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) один или несколько лиганд-связывающих доменов рецепторов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный домен содержит один или несколько неиммуноглобулиновых каркасов, таких как дарпин, аффибоди, аффилин, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атример, центирин, пронектин, антикалин, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo или домен D (домен α 3D) и т.п. В некоторых воплощениях изобретения антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) один или несколько доменов связывания адаптера (например, RZIP, EZIP, E4, K4, NKG2D-AF, NKG2D-YA и т.п.). В некоторых воплощениях изобретения антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) один или несколько Fc-связывающих доменов (например, Fc-связывающий участок CD16, CD32 или CD64 и т.п.). В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) один или несколько аутоантигенов. В некоторых воплощениях антиген-специфичный(е) домен(ы) полипептида SAR содержит одну или несколько эпитопных меток или мимеотопов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) один или несколько лиганд-связывающих доменов рецепторов. В некоторых воплощениях антигенспецифичный(ие) домен(ы) полипептида SAR содержит(ат) один

или несколько рецепторсвязывающих доменов лигандов. В некоторых воплощениях антигенспецифичные домены SAR содержат по меньшей мере один Fv (например, фрагменты vL и vH) и один или несколько AABD (например, SVH, SVL, vHH, svd-TCR, дарпин, аффибоди, центирин, домен D, эпитоп, мимеотоп, EZIP, RZIP, E4, K4 и т.п.). В некоторых воплощениях антигенспецифичные домены SAR содержат по меньшей мере одиночный вариабельный домен TCR (например, фрагменты Va/Vb или Vg/Vd TCR) и один или несколько AABD (например, SVH, SVL, FHVH, vHH, svd-TCR, дарпин, аффибоди, центирин, D-домен, эпитоп, мимеотоп, EZIP, RZIP, E4, K4 и т.п.). В одном воплощении антигенспецифичные домены SAR содержат один или более чем один (например, 2, 3, 4, 5, 6 или более) AABD (например, SVH, SVL, vHH, FHVH, svd-TCR, дарпин, аффибоди, центирин, D-домен, эпитоп, мимеотоп, EZIP, RZIP, E4, K4 и т.п.). В одном воплощении SAR содержит AABD одного типа (например, два vHH, три дарпин, два центирин и т.п.). В одном воплощении SAR содержит AABD разных типов (например, один vHH и один дарпин; один дарпин, одиночный домен vHH и один центирин и т.п.). В одном воплощении полипептид SAR содержит AABD, которые являются полностью человеческими, гуманизированными, химерными или нечеловеческими по происхождению. В одном воплощении полипептид SAR содержит один или несколько линкеров. В одном воплощении полипептид SAR содержит один или более гибких линкеров (например, линкер Gly-Ser). В одном воплощении полипептид SAR содержит один или несколько линкеров, расщепляемых протеазами (например, линкеры, которые расщепляются клеточными протеазами, например, MMP14, например, линкер, кодируемый SEQ ID NO:1218). В одном воплощении полипептид SAR содержит один или несколько линкеров Ig или Ig-подобных линкеров. В одном воплощении SAR содержит одну или более чем одну цепь. В одном воплощении две или более цепей SAR содержат один или более полипептидов. В одном воплощении две или более цепей SAR содержат полипептиды, которые разделены расщепляемыми линкерами (например, P2A, T2A, F2A и т.п.), которым необязательно предшествуют последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие сайт расщепления фурином.

В раскрытии предлагаются полинуклеотиды и полипептиды SAR с составом примерных SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50. Поскольку SAR имеют модульную структуру, специалисты в данной области техники могут создать дополнительные SAR с новыми составами путем замены различных модулей и тестирования с применением анализов, представленных в данном раскрытии. Примерные модули компонентов SAR представлены в таблицах 2-24.

В раскрытии также предлагаются полезные конфигурации для создания SAR

раскрытия. В раскрытии предлагаются полинуклеотиды и полипептиды SAR с модульной структурой домена и архитектурой примерных SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50. В одном из воплощений в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один синтетический антигенный рецептор (SAR), причем по меньшей мере один SAR содержит: а) первую полипептидную цепь, содержащую фрагмент домена vH , Va , Vg или линкера Ig , функционально связанную через необязательный линкер с первым фрагментом константной цепи Т-клеточного рецептора, содержащим первый трансмембранный домен первой субъединицы TCR; и б) вторую полипептидную цепь, содержащую домен vL , Vb , Vd или линкер Ig , функционально связанный через необязательный линкер со вторым фрагментом константной цепи Т-клеточного рецептора, содержащим второй трансмембранный домен второй субъединицы TCR; и при этом одна или несколько полипептидных цепей содержат один или несколько автономных антигенсвязывающих доменов (AABD), выбранных из группы одиночного домена vH (SVH); одиночного домена vL (SVL); домена vHH ; однодоменного антитела; svd-TCR, неиммуноглобулинового антигенсвязывающего каркаса, такого как дарпин, аффибоди, аффилины, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атимер, центирин, пронектины, антикалины, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo и D-домена; лиганд-связывающего домена рецептора; рецептор-связывающего домена лиганда; аутоантигена; адаптер-связывающего домена, Fc-связывающего домена, эпитопной метки, мимеотопа или эквивалента функционально связанных с N-концом или вблизи N-конца vH , vL , Va , Vb , Vg , Vd или линкерного домена Ig через необязательный линкер; и при этом первый фрагмент константной цепи TCR и второй фрагмент константной цепи TCR образуют модуль Т-клеточного рецептора (TCRM), который способен рекрутировать по меньшей мере один связанный с TCR сигнальный модуль при экспрессии в Т-клетках.

В одном из воплощений раскрытие предусматривает, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного SAR включает присоединение одного или нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFv) к N-концу или вблизи N-конца доменов vL и/или vH , содержащих scFv такого SAR через необязательный линкер.

В одном из воплощений в раскрытии предлагаются полезные конфигурации для SAR (например, биспецифичного или мультиспецифичного SAR), включающего один или несколько AABD, которые функционально связаны с N-концом или вблизи N-конца фрагментов vL , vH , scFv, vHH , FHVH, Va , Vb , Vd , Vg , содержащих одноцепочечный SAR

(например, CAR 2-го поколения, CAR 3-го поколения), одноцепочечный TFP (например, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ), SIR, cTCR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP или TCR через необязательный линкер. В другом воплощении в раскрытии предлагается полезная подходящая конфигурация для создания SAR (например, биспецифичного или мультиспецифичного SAR) с каркасом AABD-TCR, содержащей один или несколько AABD, которые функционально связаны с сигнальными модулями TCR через промежуточные домены линкера Ig.

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного SIR, Ab-TCR, TFP $\alpha\beta$, TFP $\gamma\delta$ или TCR включает присоединение одного или нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFv) к N-концу или вблизи N-конца доменов vL и/или vH, содержащих Fv такого SIR, через необязательный линкер.

В описании дополнительно предложены один или несколько векторов, содержащих нуклеиновые кислоты, кодирующие любой из полипептидов SAR и дополнительных модулей, описанных в предыдущих разделах. SAR раскрытия могут быть закодированы одним вектором или более чем одним вектором.

В раскрытии дополнительно предлагаются генетически модифицированные клетки, включающие векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют SAR и вспомогательные модули раскрытия.

В раскрытии дополнительно предлагаются способы лечения с применением генетически модифицированных клеток, содержащих векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют SAR и вспомогательные модули раскрытия.

В раскрытии также предлагаются новые антитела, фрагменты антител, vHH и отдельные домены vH человека (например, FHvH и chvH), способные связывать различные антигены. Целевые антигены, названия и SEQ ID NO этих новых антигенсвязывающих доменов вместе с SEQ ID NO их CDR1-CDR3 представлены в Таблице 39. Эти новые антигенсвязывающие домены можно использовать для конструирования SAR и/или адаптеров SAR раскрытия. Кроме того, эти новые антигенсвязывающие домены могут быть использованы для создания других терапевтических и диагностических биологических средств и средств клеточной терапии, включая антитела (например, биспецифичные и триспецифичные антитела, конъюгаты антител с лекарственными средствами, антитела, меченные радиоактивным изотопом, антитела, меченные флуорохромом, scFv, биспецифичные и триспецифичные активаторы T/NK-клеток и т.п.), используя способы, описанные в настоящей заявке, и способы, известные в данной области. В раскрытии предлагаются полинуклеотиды, полипептиды,

вектор, фармацевтические композиции, клетки и наборы, содержащие и/или экспрессирующие новые антигенсвязывающие домены согласно настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также относится к полинуклеотидам, кодирующим SAR, полипептидам SAR, векторам, содержащим полинуклеотиды, кодирующие полипептиды SAR, и выделенным клеткам, экспрессирующим SAR данного раскрытия. SAR раскрытия могут быть экспрессированы в иммунных клетках (например, Т-клетках, НК-клетках и т.п.) или стволовых клетках (например, гемопоэтических стволовых клетках или индуцированных плюрипотентных стволовых клетках iPSC), которые могут давать иммунные клетки. SAR могут экспрессироваться в аутологичных или аллогенных стволовых клетках. В клетках, экспрессирующих SAR, может быть снижена или устранена экспрессия одного или нескольких компонентов сигнального комплекса TCR/CD3 или нижестоящих сигнальных медиаторов. В клетках, экспрессирующих SAR, может быть снижена или устранена экспрессия молекул HLA, например, за счет отрицательной регуляции или нокаута бета2-макроглобулина. Клетки для экспрессии SAR раскрытия могут быть получены от аутологичного или аллогенного донора. Клетки для экспрессии SAR раскрытия могут быть получены от аутологичного или аллогенного донора, которому вводили мобилизующее средство (например, антагонист CXCR4, G-CSF, GM-CSF и т.п.). Клетки по настоящему изобретению могут экспрессировать один SAR или более одного SAR. В примерном воплощении один из SAR может вызывать эффекторные функции иммунных клеток (например, цитотоксичность), в то время как другой SAR может обеспечивать костимуляцию. Клетки, экспрессирующие SAR, могут быть нацелены на один антиген или более чем на один антиген. Клетки, экспрессирующие SAR, могут быть нацелены на один и тот же эпитоп или разные эпитопы одного антигена. В одном аспекте клетки, экспрессирующие SAR, могут распознавать антиген, предпочтительно или исключительно экспрессируемый на клетках гемопоэтической линии. Примерами антигенов, которые преимущественно или исключительно экспрессируются на клетках гемопоэтической линии, являются CD19, CD20, CD22, BCMA, CS1, CD30, CD33, MPL, CD138, CD38, CD79b, BAFF-R, CD123 и т.п. В одном аспекте клетки, экспрессирующие SAR, могут распознавать антиген, предпочтительно или исключительно экспрессируемый на клетках некроветворной линии. Примерами антигенов, которые преимущественно или исключительно экспрессируются на клетках некроветворной линии, являются мезотелин (MSLN), Her2, EGFR, EGFRviii, Muc16, PSMA, IL13Ra2 и т.п. В одном аспекте клетки, экспрессирующие SAR, распознают два или более новых антигена, где по меньшей мере один из антигенов предпочтительно или

исключительно экспрессируется на клетках гемопоэтического ряда, а по меньшей мере один из антигенов экспрессируется на клетках негемопоэтического ряда. SAR, экспрессирующие клетки по настоящему изобретению, можно использовать в терапии, в частности, для лечения рака. Способы лечения заболеваний, например, рака, также входят в объем изобретения.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на BCMA. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на BCMA, представлены SEQ ID NO: 7409-8374. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на BCMA, представлены SEQ ID NO: 18099-19064 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на BCMA, описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID NO: 235-248, 477-490 и SEQ ID NO: 719-732, соответственно. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на BCMA, также описаны в таблице 3 и приведена в SEQ ID No: 10925-10938, 10978-11180 и 11220-11422, соответственно. В некоторых воплощениях фрагменты SVH и vHH, нацеленные на BCMA, описаны в таблице 4 и приведены в SEQ ID NO: 852-858, 888-891, 893, 895, 901-902. В некоторых воплощениях центирин, нацеленный на BCMA, описан в таблице 7 и указан в SEQ ID NO: 983. Типичные моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, включающие AABD, содержащие SVH, vHH и центирин, представлены в таблицах 25-36. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, кодирующие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на BCMA. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на BCMA.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на PSMA (простатический специфичный мембранный антиген). В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на PSMA, представлены SEQ ID NO: 9686-10030. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на PSMA, представлены SEQ ID NO: 20376-20720 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на PSMA, описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID NO: 268-272, 510-514 и SEQ ID NO: 752-756, соответственно.

Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на PSMA, также описаны в таблице 3 и приведена в SEQ ID No: 10958-10962, 11200-11204 и 11442-11446, соответственно. В некоторых воплощениях фрагменты SVH, нацеленные на PSMA, описаны в таблице 4 и приведены в SEQ ID NO: 830-833. В некоторых воплощениях центриины, нацеленные на PSMA, описаны в Таблице 7 и приведены в SEQ ID NO: 977-979. Типичные моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, включающие AABD, содержащие SVH, vHH и центрин, представлены в таблицах 25-36. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на PSMA. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на PSMA. Также предлагаются SAR, которые нацелены на PSMA, с оптимизированной экспрессией и аффинностью, чтобы нацеливаться на раковые клетки, которые экспрессируют высокие уровни PSMA (например, более чем в 1,5 раза выше, чем у нормальных клеток), и резервируют нормальные здоровые клетки, которые экспрессируют низкий или умеренный уровень PSMA. В примерном воплощении предложены SAR, которые реагируют на раковые клетки, которые экспрессируют PSMA на уровне, по меньшей мере, в 1,5 раза превышающем уровень PSMA, наблюдаемый в нормальном здоровом эпителии предстательной железы или иммортализованных клеточных линиях, полученных из нормальных эпителиальных клеток предстательной железы. Уровень экспрессии PSMA можно измерить способами, известными в данной области, включая, без ограничения указанным, иммуногистохимию, вестерн-блоттинг, нозерн-блоттинг, количественную ПЦР и т.п. В одном воплощении новые SAR, нацеленные на клетки, экспрессирующие высокие уровни PSMA, и не нацеленные на клетки, экспрессирующие низкие уровни PSMA. Референсной клеткой, экспрессирующей высокий уровень PSMA, является клеточная линия LNCaP, а клеткой, экспрессирующей низкие уровни PSMA, являются клеточные линии PC3 и/или Huh-7. В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые показывают 2-кратную или более высокую (например, 3-кратную, 4-кратную, 5-кратную, 10-кратную и т.п.) индукцию GFP в анализе Jurkat NFAT-GFP при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с клетками LNCaP по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой при совместном культивировании с клеточными линиями PC3 или Huh-7. В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые показывают более чем 10% (например, 20%, 30%, 40% или 50% и т.п.) индукцию GFP в анализе Jurkat NFAT-GFP при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с

клетками LNCaP по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой при совместном культивировании с клеточными линиями PC3 или Huh-7.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на мезотелин (MSLN). В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на MSLN, представлены SEQ ID NO: 10307-10720. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на MSLN, представлены SEQ ID NO: 20997-21410 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на MSLN, описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID NO: 277-282, 519-524 и 761-766, соответственно. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на MSLN, также описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID No: 10967-10972, 11209-11214 и 11451-11456, соответственно. В некоторых воплощениях фрагменты vHH, нацеленные на MSLN, описаны в таблице 4 и приведены в SEQ ID NO: 876-877. Типичные моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, включающие vL, vH, scFv, vHH, нацеленные на MSLN, представлены в таблицах 25-36. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на MSLN. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на MSLN. Также предлагаются SAR, которые нацелены на MSLN с оптимизированной экспрессией и аффинностью, чтобы нацеливаться на раковые клетки, которые экспрессируют высокие уровни MSLN (например, более чем в 1,5 раза выше, чем у нормальных клеток), и резервируют нормальные здоровые клетки, которые экспрессируют низкий или умеренный уровень MSLN. В примерном воплощении предложены SAR, которые реагируют на раковые клетки, которые экспрессируют MSLN на уровне, по меньшей мере, в 1,5 раза превышающем уровень MSLN, наблюдаемый в нормальных здоровых клетках эпителия брюшины или иммортализованных клеточных линиях, полученных из нормальных здоровых клеток перитонеального эпителия. Уровень экспрессии MSLN можно измерить методами, известными в данной области, включая, без ограничения указанным, иммуногистохимию, вестерн-блоттинг, нозерн-блоттинг, количественную ПЦР и т.п. В одном воплощении в раскрытии предлагаются новые SAR, нацеленные на клетки, экспрессирующие высокие уровни MSLN, и не нацеленные на клетки, экспрессирующие низкие уровни MSLN. Референсной клеткой, экспрессирующей

высокий уровень MSLN, является клеточная линия SKOV-3, а клеткой, экспрессирующей низкие уровни MSLN, является клеточная линия MCF-7 или LNCaP. В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые показывают 2-кратную или более высокую (например, 3-кратную, 4-кратную, 5-кратную, 10-кратную и т.п.) индукцию GFP в анализе Jurkat NFAT-GFP при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с клетками SKOV-3 по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой при совместном культивировании с клеточной линией MCF-7 или LNCaP. В другом воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые показывают более чем 10% (например, 20%, 30%, 40% или 50% и т.п.) индукции GFP в анализе Jurkat NFAT-GFP при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с клетками SKOV-3 по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой при совместном культивировании с клеточными линиями MCF-7 или LNCaP.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на Her2. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на Her2, представлены SEQ ID NO: 8858-8995. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на HER2, представлены SEQ ID NO: 19548-19616 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на HER2, описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID NO: 256-257, 498-499 и 740-741, соответственно. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на HER2, также описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID No: 10946-10947, 11188-11189 и 11430-11431, соответственно. В некоторых воплощениях фрагменты vHH, нацеленные на HER2, описаны в таблице 4 и приведены в SEQ ID NO: 864-866. В некоторых воплощениях фрагменты дарпинов, нацеленные на HER2, описаны в таблице 4 и приведены в SEQ ID NO: 972-973. Примеры моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, включающих vL, vH, scFv, vHH и дарпины, нацеленных на HER2, представлены в таблицах 25-36. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на HER2. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на HER2. Также предусмотрены SAR, которые нацелены на Her2 с оптимизированной экспрессией и аффинностью, чтобы нацеливаться на раковые клетки, которые экспрессируют высокие уровни Her2 (например, более чем в 1,5 раза выше, чем

нормальные клетки), и резервируют нормальные здоровые клетки, которые экспрессируют низкий или умеренный уровень Her2. В примерном воплощении предложены SAR, которые реагируют на раковые клетки, которые экспрессируют Her2 на уровне, по меньшей мере, в 1,5 раза превышающем уровень Her2, наблюдаемый в нормальных здоровых клетках эпителия молочной железы или иммортализованных клеточных линиях, полученных из нормального здорового эпителия молочной железы. Уровень экспрессии Her2 можно измерить методами, известными в данной области, включая, без ограничения указанным, иммуногистохимию, вестерн-блоттинг, нозерн-блоттинг, количественную ПЦР и т.п. В одном воплощении в раскрытии предлагаются новые SAR, нацеленные на клетки, экспрессирующие высокие уровни Her2, и не нацеленные на клетки, экспрессирующие низкие уровни Her2. Референсной клеткой, экспрессирующей высокий уровень Her2, является клеточная линия SKOV-3, а клеткой, экспрессирующей низкий уровень Her2, является клеточная линия MBA-MD-231. В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые демонстрируют 2-кратную или более высокую (например, 3-кратную, 4-кратную, 5-кратную, 10-кратную и т.п.) индукцию GFP в анализе Jurkat NFAT-GFP при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с клетками SKOV-3 по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой при совместном культивировании с клеточной линией MBA-MD-231. В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые показывают более чем 10% (например, 20%, 30%, 40% или 50% и т.п.) индукции GFP в анализе Jurkat NFAT-GFP при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с клетками SKOV-3 по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой при совместном культивировании с клеточной линией MBA-MD-231.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на CD229. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на CD229, представлены SEQ ID NO: 9134-9409. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на CD229, представлены SEQ ID NO: 19824-20099 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на CD229, описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID NO: 260-263, 502-505 и 744-747, соответственно. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на CD229, также описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID No: 10950-10953, 11192-11195 и 11434-11437, соответственно. Примеры моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, включающих vL, vH и scFv, нацеленных на CD229, представлены в таблицах 25-36. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы,

содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на CD229. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на CD229.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на ROR1. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на ROR1, представлены SEQ ID NO: 8375-8581. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на ROR1, представлены SEQ ID NO: 19065-19133 (таблица 36). Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на CD229, также описаны в таблице 3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на ROR1. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на ROR1.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на CEA. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на CEA, представлены SEQ ID NO: 8720-8857. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на CEA, представлены SEQ ID NO: 19410-19547 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на CEA, перечислены в таблице 3. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на CEA, также описаны в таблице 3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на CEA. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на CEA.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на Toso. В примерных воплощениях

последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на Toso, представлены SEQ ID NO: 8996-9064. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на Toso, представлены SEQ ID NO: 19686-19747 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на Toso, перечислены в таблице 3. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на Toso, также описаны в таблице 3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на Toso. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на Toso.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на белок gp350, кодируемый EBV. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на gp350 EBV, представлены SEQ ID NO: 9410-9547. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на gp350 EBV, представлены SEQ ID NO: 20169-20237 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на gp350 EBV, перечислены в таблице 3. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на gp350 EBV, также описаны в таблице 3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на gp350 EBV. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на EBV gp350. Эти SAR полезны для лечения нарушений, связанных с инфекцией EBV.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на белок LMP1, кодируемый EBV. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на EBV LMP1, представлены SEQ ID NO: 9617-9685. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на gp350 EBV, представлены SEQ ID NO: 20307-20375 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на gp350 EBV, перечислены в таблице 3. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на EBV LMP1, также

описаны в таблице 3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на EBV LMP1. В настоящем документе также представлены генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на EBV LMP1. Эти SAR полезны для лечения нарушений, связанных с инфекцией EBV.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на белок нейраминидазы (NA) гриппа А. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на NA гриппа А, представлены в Таблице 36. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на NA гриппа А, представлены в (Таблице 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на NA гриппа А, перечислены в таблице 3. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на NA вируса гриппа А, также описаны в таблице 3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на NA гриппа А. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на NA гриппа А. Эти SAR полезны для лечения заболеваний, связанных с инфекцией гриппа А.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на рецептор-связывающий домен шиповидного гликопротеина SARS-CoV2 (S-RBD). В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на S-RBD, представлены SEQ ID NO: 25-26. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на S-RBD, представлены SEQ ID NO: 23318-19. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антиген-специфичный домен SAR нацелен на S-RBD. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на S-RBD. Эти SAR полезны для лечения нарушений, связанных с инфекцией S-RBD.

В одном воплощении в настоящей заявке предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, где антигенспецифичный домен SAR нацелен на антиген, указанный в таблицах 25-36. В примерных воплощениях последовательности выделенных фрагментов нуклеиновых кислот, нацеленных на антигены, представлены SEQ ID NO: 1330-1332, 1848-10720. В примерных воплощениях последовательности выделенного полипептида, нацеленного на различные антигены, представлены SEQ ID NO: 12020-12022, 12539-21410 (таблица 36). В некоторых воплощениях фрагменты vL, vH и scFv, нацеленные на разные антигены, описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID NO: 46-282, 288-524 и 530-766, соответственно. Аминокислотные SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на различные антигены, также описаны в таблице 3 и приведены в SEQ ID No: 10736-10972, 10978-11214 и 11220-11456, соответственно. В некоторых воплощениях типичные AABD (например, vHH, SVH, дарпин, центирин, аффибоди, лиганды, рецепторы, Zip-домены, белковые метки и т.п.), нацеленные на различные антигены, описаны в таблицах 5, 7-9 и представлены SEQ ID NO: 830-902; 972-1023. Примеры моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, включающих vL, vH, scFv и AABD, представлены в таблицах 25-36 и 41-50. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный(ие) домен(ы) SAR нацелен(ы) на различные антигены. Также в настоящей заявке предлагаются генетически сконструированные клетки (такие как Т-клетки, НК-клетки), включающие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие SAR, где антигенспецифичный(ие) домен(ы) SAR нацелен(ы) на различные антигены.

Изобретение также относится к улучшению качества Т-клеток, экспрессирующих SAR, путем их размножения в присутствии миметика SMAC.

Изобретение также относится к улучшению качества Т-клеток, экспрессирующих SAR, путем их размножения в присутствии агониста NIK (киназы, индуцирующей NF-κB).

SAR раскрытия могут быть изготовлены с применением открытой, полужакрытой или закрытой производственной системы.

SAR раскрытия могут быть изготовлены с применением устройства или контейнера, содержащего газопроницаемую мембрану. Типичным устройством с газопроницаемой мембраной является флакон GRex.

В раскрытии дополнительно описывается способ изготовления SAR в условиях гипоксии.

В раскрытии дополнительно описывается способ изготовления SAR в условиях гипоксии с применением устройства или контейнера, содержащего газопроницаемую мембрану. Типичным устройством с газопроницаемой мембраной является флакон GRex.

В раскрытии также предлагается способ контроля активности SAR путем включения в них по меньшей мере одного модуля, который связывается с альбумином через расщепляемый протеазой линкер. Примерный модуль, который связывается с альбумином, представляет собой домен vH или vH, нацеленный на альбумин (например, SEQ ID NO (DNA): 878 и SEQ ID NO (PRT): 11568), который может быть связан с SAR через последовательность-мишень MMP9 (например, SEQ ID NO: 11911-11912 и 11921).

Настоящее изобретение также относится к полинуклеотидам, кодирующим SVH согласно настоящему изобретению, векторам, кодирующим такие полипептиды, выделенным клеткам, экспрессирующим SVH, и выделенным полипептидам, кодирующим SVH согласно настоящему изобретению. Такие клетки и полипептиды можно использовать в терапии, в частности для лечения рака, аутоиммунных и инфекционных заболеваний. Способы лечения заболеваний, например, рака, также входят в объем настоящего изобретения.

В другом аспекте раскрытие относится к выделенному SAR, содержащему два или более антигенсвязывающих домена и два трансмембранных домена, где указанный антигенсвязывающий домен содержит один или более, например, по меньшей мере два, домена вариабельной области тяжелой цепи (VH) человека и лишен легких цепей.

В некоторых воплощениях SAR содержит два или несколько наборов из двух или более полипептидов. Полипептиды каждого набора SAR являются смежными друг с другом (функциональная полипептидная единица 1), но не являются смежными с полипептидами другого набора (функциональная полипептидная единица 2).

В другом аспекте раскрытие относится к способу, например, способу *ex vivo*, для получения клетки или клеточной популяции для использования в адаптивной иммунотерапии, включающему трансформацию указанной клетки или клеточной популяции с помощью SAR раскрытия.

В другом аспекте раскрытие относится к способу получения Т-клеток, экспрессирующих SAR (например, CAR-T, или SIR-T, или TCR-T, или ab-TCR-T, AABD-TCR-T или TFP-T, TCR -Т-клеток и т.п.) за счет их экспансии в присутствии миметиков SMAC. В некоторых воплощениях SAR-Т-клетки размножаются *ex vivo* в присутствии миметика SMAC в течение 2-50 дней.

В другом аспекте раскрытие относится к способу повышения эффективности Т-клеток, экспрессирующих SAR (например, CAR-T, или SIR-T, или TCR-T, или ab-TCR-T,

ААВD-TCR-T или TFP-T, TCR-T клеток и т.п.) за счет их экспансии в присутствии миметиков SMAC. В некоторых воплощениях SAR-T-клетки размножаются *ex vivo* в присутствии миметика SMAC в течение 2-50 дней.

В другом аспекте раскрытие относится к способу повышения эффективности T-клеток, экспрессирующих SAR (например, CAR-T, или SIR-T, или TCR-T, или ab-TCR-T, ААВD-TCR-T или TFP-T, TCR-T клеток и т.п.) за счет их экспансии в присутствии миметиков SMAC. В некоторых воплощениях SAR-T-клетки размножаются *ex vivo* в присутствии миметика SMAC в течение 2-50 дней.

В другом аспекте раскрытие относится к способу получения SAR-экспрессирующих T-клеток (например, CAR-T, или SIR-T, или TCR-T, или ab-TCR-T, или TFP-T клеток и т.п.) путем их экспансии в присутствии агониста NIK. В некоторых воплощениях SAR-T-клетки размножаются *ex vivo* в присутствии агониста NIK в течение 2-50 дней.

В другом аспекте раскрытие относится к способу повышения эффективности T-клеток, экспрессирующих SAR (например, CAR-T, или SIR-T, или TCR-T, или ab-TCR-T, ААВD-TCR-T или TFP- T, TCR-T клеток и т.п.) за счет их экспансии в присутствии агониста NIK. В некоторых воплощениях SAR-T-клетки размножаются *ex vivo* в присутствии агониста NIK в течение 2-50 дней.

В другом аспекте раскрытие относится к способу улучшения цитотоксичности T-клеток, экспрессирующих SAR (например, CAR-T, или SIR-T, или TCR-T, или ab-TCR-T, ААВD-TCR-T или TFP- T, TCR-T клеток и т.п.) за счет их экспансии в присутствии агониста NIK. В некоторых воплощениях SAR-T-клетки размножаются *ex vivo* в присутствии агониста NIK в течение 2-50 дней.

В другом аспекте раскрытие относится к фармацевтической композиции, содержащей клетку или клеточную популяцию раскрытия.

Биолюминесцентная визуализация часто используется для мониторинга активности продуктов клеточной терапии *in vivo*. В описании описано применение термостабильных люцифераз (например, LucPPE и ее сконструированных вариантов, таких как LucPPE-146-1H2 (SEQ ID NO (DNA): 17 и SEQ ID NO (PRT): 11997), LucPPE-133-1B2 (SEQ ID NO (DNA): 18), LucPPE-78-0B10 (SEQ ID NO: 19), LucPPE49-7C6A (SEQ ID NO: 20), LucPpL-81-6G1 (SEQ ID NO: 21) для визуализации биолюминесценции *in vivo*.

В раскрытии также предлагаются новые фрагменты vL, vH и scFv, которые можно использовать при конструировании одноцепочечных и двухцепочечных SAR, включая CAR 2-го поколения, одноцепочечные и двухцепочечные SIR, одноцепочечные и двухцепочечные cTCR, Ab-TCR, ААВD-TCR, TFP, TAC и тому подобное. Примерные

фрагменты vL, vH и scFv и их антигены-мишени перечислены в таблице 3. Примерные моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, основанные на фрагментах vL, vH и scFv hu-mROO5-1, представлены в таблице 35. Поскольку SAR являются модульными, фрагменты vL, vH и scFv hu-mROO5-1 могут быть заменены фрагментами vL, vH и scFv, нацеленными на другой антиген, для разработки SAR, нацеленных на эти антигены. В таблице 36 представлены название первой конструкции и SEQ ID NO других конструкций серии, в которых фрагменты vL, vH и scFv hu-mROO5-1 заменены другими фрагментами vL, vH и scFv. Порядок конструкции в каждой серии такой же, как и порядок конструкций серии hu-mROO5-1, перечисленных в Таблице 35, и, следовательно, название и SEQ ID NO конструкции конкретной серии могут быть определены со ссылкой на Таблицы 35 и 36. Например, в таблице 35 показано, что последней конструкцией в серии hu-mROO5-1 (серия 1) является CD8SP-CD38-USC1-FHVN-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-Bst-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] и имеет нуклеотидную и аминокислотную SEQ ID No 7408 и 18098. В таблице 36 показано, что в серии 5 hu-mROO5-1-vL заменен на BCMA-huUSC76-vL, а hu-mROO5-1-vH заменен на BCMA-huUSC76-I58S-vH. Нуклеотидные SEQ ID No различных конструкций этой серии находятся в диапазоне 7616-7684, а аминокислотные SEQ ID No конструкций этой серии находятся в диапазоне 18306-18374. Поскольку порядок различных конструкций в серии 5 такой же, как порядок конструкций серии 1, показанный в Таблице 35, нуклеотидные и аминокислотные SEQ ID No конструкции CD8SP-CD38-USC1-FHVN-32184-G4Sx3-R1-BCMA-huUSC76-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-Bst-BCMA-huUSC76-I58S-vH-[hTCRa-T48C] могут быть определены как 7684 и 18374, соответственно. Тот же способ можно использовать для определения SEQ ID NO любого SAR из серии, указанной в Таблице 36.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид синтетического антигенного рецептора (SAR), причем по меньшей мере один полипептид SAR содержит: (A) первый модуль, содержащий один или несколько автономных антигенсвязывающих доменов (AABD), или их фрагменты, выбранные из группы: одиночный домен vH (SVH) или его фрагмент; одиночный домен vL (SVL) или его фрагмент; домен vHH или его фрагмент; однодоменное антитело или его фрагмент; одиночный переменный домен TCR (svd-TCR) или его фрагмент; неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, выбранный из дарпина, аффибоди, аффилина, аднектина, аффитина, ободи, репободи, финомера, альфабоди, авимера,

атримера, центурина, пронектина, антикалинов, домен Кунитца, белка с повторами Armadillo и D-домена или фрагмента любого из вышеперечисленных; лиганд-связывающий домен рецептора или его фрагмент; рецептор-связывающий домен лиганда; аутоантиген или его фрагмент; домен связывания адаптера или его фрагмент; и Fc-связывающий домен или его фрагмент; и (B) второй модуль, содержащий vL (VL), vH (VH), $V\alpha/V\alpha$, $V\beta1$ ($V\beta1$), $V\beta2$ ($V\beta2$), $V\gamma$ ($V\gamma$), $V\delta$ ($V\delta$), scFv, scTCR, линкерный домен Ig или их комбинацию; (C) необязательный третий модуль, содержащий внеклеточный домен, соединительный пептид или шарнирный домен; (D) четвертый модуль, содержащий трансмембранный домен; и (E) необязательный пятый модуль, содержащий один или несколько внутриклеточных сигнальных доменов; где первый, второй, необязательный третий, четвертый и необязательный пятый модули функционально связаны через один или несколько необязательных линкеров.

В раскрытии также предлагается рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий полипептид SAR, где один или несколько AABD присоединены через необязательный линкер к N-концу или вблизи N-конца A) первой полипептидной цепи, содержащей фрагмент vH , $V\alpha$, $V\gamma$ или линкерного домена Ig, функционально связанный через необязательный линкер с первым фрагментом константной цепи T-клеточного рецептора, содержащий первый соединительный пептид, функционально связанный с первым трансмембранным доменом первой субъединицы TCR; и (B) второй полипептидной цепи, содержащей vL , $V\beta$, $V\delta$ или линкерный домен Ig, функционально связанный посредством необязательного линкера со вторым фрагментом константной цепи T-клеточного рецептора, содержащий второй соединительный пептид, функционально связанный со вторым трансмембранным доменом второй субъединицы TCR; при этом первый фрагмент константной цепи TCR и второй фрагмент константной цепи TCR образуют модуль T-клеточного рецептора (англ. T cell receptor module, TCRM), который способен рекрутировать по меньшей мере один связанный с TCR сигнальный модуль при экспрессии в T-клетке.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где кодируемые vH , $V\alpha$ или $V\gamma$ первого антигенсвязывающего домена и vL , $V\beta$ или $V\delta$ второго антигенсвязывающего домена образуют антигенсвязывающий модуль, который специфически связывается с антигеном-мишенью.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где AABD, vL , vH , $V\alpha$, $V\beta$, $V\gamma$, $V\delta$ и/или линкерный домен Ig представляет собой

полностью человеческий, гуманизированный, химерный или нечеловеческий домен.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где кодируемый линкерный домен Ig содержит полипептид с SEQ ID NO: 11832-11865 или его фрагмент или вариант по меньшей мере с 70% гомологией последовательности с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 11832-11865. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где кодируемый необязательный линкерный домен содержит полипептид с SEQ ID NO: 11832-11865, 11714-11730 или его фрагмент или вариант по меньшей мере с 70% гомологии последовательности с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 11832-11865, 11714-11730 или доменом длиной от 25 до 500 аминокислот. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, содержащий частичные или полные внеклеточные, трансмембранные и внутриклеточные домены полипептида, способные рекрутироваться в модуль Т-клеточного рецептора (TCRM). В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, содержащий внеклеточные, трансмембранные и внутриклеточные домены полипептида, выбранного из группы CD3 δ , CD3 ϵ , CD3 γ и CD3 ζ , или их фрагмента по меньшей мере с 70% гомологии последовательности с полипептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 11903-11906. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где кодируемый фрагмент константной цепи Т-клеточного рецептора содержит полипептид или его фрагмент, имеющий по меньшей мере 70% гомологии последовательности с полипептидом, имеющим последовательность любого из SEQ ID NO: 11732-11830. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один SAR, где кодируемая константная цепь Т-клеточного рецептора содержит соединительный пептид или его фрагмент, имеющий по меньшей мере 70% гомологии последовательности с соединительным пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 11867-11875. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, содержащий трансмембранный домен или его фрагмент, имеющий по меньшей мере 70% гомологии последовательности с трансмембранным доменом, имеющим

последовательность любой из SEQ ID NO: 11877- 11881 или 23332-23334. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, при этом внутриклеточный домен содержит цитозольный домен или его фрагмент, последовательность которого гомологична по меньшей мере на 70% полипептиду, имеющему последовательность любой из SEQ ID NO: 11883-11886, 11785 или 23335-23337.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, который имеет каркас CAR первого поколения, CAR второго поколения, CAR третьего поколения, одноцепочечный SIR, полутороцепочечный SIR, двухцепочечный SIR, zSIR, одноцепочечный cTCR, полутороцепочечный cTCR, двухцепочечный cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ , TFP $\alpha\beta$, а TFP $\gamma\delta$, Tri-TAC, одноцепочечный TCR, двухцепочечный TCR или HLA-независимый TCR.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где SAR может связываться: по меньшей мере с одним антигеном; и/или по меньшей мере с одним эпитопом одного или нескольких антигенов. В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR раскрытия, где кодируемые два или более AABD связываются: по меньшей мере с одним антигеном; и/или по меньшей мере с одним эпитопом одного или нескольких антигенов.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, в котором кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов связываются по меньшей мере с одним антигеном, выбранным из антигенов, перечисленных в таблице В.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где кодируемый полипептид SAR содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов, выбранных из группы, состоящей из: (i) варибельной области тяжелой цепи (vH), содержащей последовательность, представленной в любой из SEQ ID No: 10978-11214, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, или последовательности, по меньшей мере на 70% идентичные в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), с последовательностями, указанными в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10978-11214 и 23148-23161 или последовательности

с менее чем 3 заменами в последовательностях трех CDR, представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10978-11214 и 23148-23161, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10978-11214 и 23148-23161, которая кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном; (ii) вариабельной области легкой цепи (vL), содержащей последовательность, представленной в любой из SEQ ID NO: 10736-10972, или последовательности, по меньшей мере на 70% идентичные последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, или последовательности по меньшей мере на 70% идентичные в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), с последовательностями, представленными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, или последовательности с не менее чем 3 заменами в трех CDR из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, которая кодирует полипептид, связывающийся со своим антигеном; (iii) одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv), содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 11220-11456, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, которая кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном; (iv) домена VHH верблюдовых, содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173, или последовательности, идентичные по меньшей мере на 70% последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592 и 23163-23173, и/или последовательности по меньшей мере на 70% идентичные в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), с последовательностями, указанными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173 или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173 или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173 и которая кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном; (v)

неиммуноглобулинового остова, кодируемого полинуклеотидом любой из SEQ ID NO: 11662-11673 или последовательностей, по меньшей мере на 70% идентичных последовательностям, указанным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11662-11673, или последовательностей которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11662-11673; (vi) лиганд-связывающего домена рецептора, содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 11674-11691, или, идентичные по меньшей мере на 70% последовательности, которая кодирует полипептид, который связывается с когнатным белком; (vii) рецептор-связывающего домена лиганда, содержащего последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 11692-11702, 22391-22392, 22402-22404, или последовательности идентичные им по меньшей мере на 70%, и которая кодирует полипептид, который связывается с его когнатным белком; (viii) одиночного домена vH, содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, или последовательности, идентичные по меньшей мере на 70% последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, и/или последовательности с 70% идентичностью в трех определяющих комплементарность областях (CDR) из последовательностей представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR последовательностей, представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, которая кодирует полипептид, связывающийся со своим антигеном; (ix) домена связывания адаптера, содержащего последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 11704-11712 или 22383, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, и которая кодирует полипептид, который связывается со своим адаптером; (x) аутоантигена, содержащего последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 11687, 22406-22407-11712 или 22383, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, и которая кодирует полипептид, который связывается со своим аутоантителом или клетками, продуцирующими аутоантитела; (xi) переменной области TCR (Va, Vb, Vg или Vd), содержащей последовательность, представленной в любой из

SEQ ID NO: 22396-2239 и 11653-11660, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, или последовательности, по меньшей мере с 70% идентичностью трех определяющих комплементарность областей (CDR) из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22396-22397 и 11653-11660, или последовательности с не менее чем 3 заменами в трех CDR указанных последовательностей в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22396-22397 и 11653-11660 или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22396-22397 и 11653-11660 и которые кодируют полипептид, связывающийся со своим антигеном; и (xii) одиночного переменного домена TCR (svd-TCR), содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 22399-22400, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, или последовательности, идентичные на 70-99% в трех определяющих комплементарность областях (CDR), с последовательностями, представленными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22399-22400, или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22399-22400, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22399-22400, и которая кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR, где по меньшей мере один из антигенов-мишеней экспрессируется на клетках линии крови, тогда как по меньшей мере один из антигенов-мишеней экспрессируется на клетках солидной опухоли.

В одном воплощении в раскрытии предлагается рекомбинантная экспрессирующая система, содержащая рекомбинантный полинуклеотид согласно настоящему изобретению, коэкспрессированный с терапевтическим контролем, при этом терапевтический контроль выбран из группы, состоящей из укороченного рецептора эпидермального фактора роста (tEGFR), укороченного рецептора эпидермального фактора роста viii (tEGFRviii), укороченного CD30 (tCD30), укороченного BCMA (tBCMA), укороченного CD19 (tCD19), CD34, тимидинкиназы, цитозиндезаминазы, нитроредуктазы, ксантингуанинфосфорибозилтрансферазы, каспазы 8 человека, каспазы 9 человека, индуцибельной каспазы 9 (icaspase9), пурипнуклеозидфосфорилазы, линамараза/линамарин/глюкозооксидазы, дезоксирибонуклеозидкиназы, пероксидазы

хрена (HRP)/индол-3-уксусной кислоты (IAA), гамма-глутамилцистеинсинтетазы, CD20/альфа-CD20, химеры CD34/тимидинкиназа, докс-зависимой каспазы-2, мутантной тимидинкиназы (HSV-TKSR39), системы AP1903/Fas, химерного цитокинового рецептора (CCR), гибридного белка 41BBL, CD40L, K13, MC159, cFLIP-L/MRIT α , cFLIP-p22, HTLV1 Tax, HTLV2 Tax, мутанта HTLV2 Tax-RS, FKBPx2-K13, FKBPx2-HTLV2-Tax, FKBPx2-HTLV2-Tax-RS, IL6R-304-vHH-Alb8-vHH, IL12f, PD1-4H1 scFV, PD1-5C4 scFV, PD1-4H1-Alb8-vHH, PD1-5C4-Alb8-vHH, CTLA4-ипилимумаб-scFv, CTLA4-ипилимумаб-Alb8-vHH, IL6-19A-scFV, IL6-19A-scFV-Alb8-vHH, sHVEM, sHVEM-Alb8-vHH, hTERT, Fx06, CD3z, CD3z-GGGS-41BB, CD3-BBz, CD3-CD28z, CD3-CD28-Lck, кшPHK, нацеленной на Brd4, химерного антигенного рецептора (CAR), hTERT, гепариназы, CAR, ингибирующего CAR и их комбинацию и их комбинации.

В одном воплощении раскрытие относится по меньшей мере к одному вектору, содержащему рекомбинантный полинуклеотид, включающий SAR, где вектор выбран из группы, состоящей из ДНК-вектора, РНК-вектора, плазмиды, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора, ретровирусного вектора, бакуловирусного вектора, транспозонного вектора sleeping beauty и транспозонного вектора piggybac.

В одном воплощении в раскрытии предлагается по меньшей мере один полипептид SAR, кодируемый по меньшей мере одним рекомбинантным полинуклеотидом, содержащим SAR. В одном воплощении раскрытие относится к рекомбинантной клетке или клеточной популяции, которая экспрессирует по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий SAR раскрытия. В другом воплощении раскрытие относится к клетке или клеточной популяции, экспрессирующей SAR, где клетка представляет собой иммунную эффекторную клетку или стволовую клетку, которая может давать иммунную эффекторную клетку, или индуцированную плюрипотентную стволовую клетку (ИПСК), которая может давать иммунную эффекторную клетку. Клетка или популяция клеток может быть аутологичной клеткой или аллогенной клеткой.

В одном воплощении раскрытие относится к клетке или клеточной популяции с нарушенной или отмененной функциональной экспрессией эндогенного TCR и с функциональной экспрессией полипептида SAR. В описании также представлена клетка или клеточная популяция, в которых мРНК SAR и транслируемый полипептид экспрессируются экспрессирующей кассетой, помещенной в локус эндогенного гена Т-клетки. В описании также представлена клеточная популяция, в которой по меньшей мере один полинуклеотид находится под контролем промотора и/или регуляторных элементов эндогенного гена Т-клетки. В раскрытии предлагается клетка или клеточная популяция, где локус эндогенного гена Т-клетки представляет собой локус TRAC, локус TRBC, локус

TRGC и/или локус TRDC. В одном воплощении раскрытие относится к клетке или клеточной популяции, где размещение полинуклеотида SAR нарушает или отменяет эндогенную экспрессию TCR, содержащего эндогенную цепь TCR α и/или эндогенную цепь TCR β , или эндогенную цепь TCR γ и/или эндогенную цепь TCR δ в Т-клетке. В одном воплощении в раскрытии предлагается клетка или клеточная популяция, в которых нарушение или отмена экспрессии эндогенного TCR приводит к усилению экспрессии и/или активности неестественного иммунного рецептора по сравнению с его экспрессией и/или активностью в Т-клетках с эндогенным TCR дикого типа и где SAR имеет каркас одного или нескольких из SIR, cTCR и/или Ab-TCR.

В одном воплощении в раскрытии предлагается клетка или клеточная популяция, в которой полипептид SAR имеет каркас TFP, а нарушение или отмена экспрессии эндогенного TCR приводит к нарушению экспрессии и/или активности SAR по сравнению с его экспрессией и/или активностью в Т-клетках с эндогенным TCR дикого типа.

В одном воплощении в настоящем раскрытии предлагается клетка или клеточная популяция, где полипептид SAR имеет каркас TFP, и эта клетка или клеточная популяция дополнительно экспрессирует последовательность, кодирующую константную цепь TCR, где константная цепь TCR представляет собой i) константную цепь TCR альфа или ее фрагмент, или ii) константную цепь TCR бета или ее фрагмент, или iii) константную цепь TCR гамма или ее фрагмент, или iv) константную цепь TCR дельта или ее фрагмент, или комбинацию i) и ii) или iii) и iv), и где экспрессия последовательности, кодирующей константную цепь TCR, восстанавливает экспрессию и/или активность полипептида SAR.

В одном воплощении раскрытие относится к способу получения SAR-экспрессирующей иммунной эффекторной клетки, включающей введение по меньшей мере одного вектора, содержащего SAR, или по меньшей мере одного рекомбинантного полинуклеотида, содержащего SAR, в иммунную эффекторную клетку, гемопоэтическую стволовую клетку или клетку-предшественник, которые могут давать иммунную эффекторную клетку в таких условиях, при которых экспрессируется полипептид SAR.

В одном воплощении в раскрытии предлагается способ экспансии SAR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток в газопроницаемой лабораторной посуде в нормоксических или гипоксических условиях.

В одном воплощении в раскрытии предлагается способ, в котором иммунные эффекторные клетки, экспрессирующие SAR, размножаются в присутствии миметика SMAC или соединения-агониста NIK.

В одном воплощении в раскрытии предлагается способ обеспечения иммунитета против болезни у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества

иммунной эффекторной клетки или стволовой клетки, которая может дать начало иммунной эффекторной клетке, при этом клетка представляет собой аутологичные Т-клетки, или аллогенные Т-клетки, или аутологичные НКТ-клетки, или аллогенные НКТ-клетки, или аутологичные, или аллогенные гемопоэтические стволовые клетки, или аутологичные, или аллогенные iPSC, которые могут давать иммунную эффекторную клетку.

В одном воплощении в настоящем раскрытии предлагается способ лечения или профилактики заболевания, связанного с экспрессией антигена, ассоциированного с заболеванием, у субъекта, включающему введение субъекту эффективного количества иммунной эффекторной клетки, содержащей полипептид синтетического антигенного рецептора (SAR), где полипептид SAR связывается с одним или несколькими антигенами, ассоциированными с заболеванием, выбранными из антигенов, перечисленных в Таблице В, и где заболевание, связанное с экспрессией антигена, ассоциированного с заболеванием, выбрано из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, преанцерозного состояния, онкологического заболевания, и показаний, не связанных с онкологическими заболеваниями, ассоциированных с экспрессией ассоциированного с заболеванием антигена.

В одном воплощении раскрытие относится к рекомбинантному полинуклеотиду, кодирующему полипептид SAR, причем полинуклеотид содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1849-10720, 21609-21625, 21626-21659, 21662-21792, 21808, 21813-21840, 21843-21879, 21882- 21892, 21894-21899, 21901-21947, 21949-21963, 21967-21972, 21985-22085, 22087-22099, 22104-22207, 22209-22250, 22252-22254, 22256-22262, 22264-22273, 22275-22284, 22286-22296 и 22307-22312, или последовательности, по меньшей мере, на 75% идентичной указанной выше нуклеотидной последовательности. В одном воплощении в изобретении представлена аминокислотная последовательность, кодирующая полипептид синтетического антигенного рецептора (SAR), выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12539-21410, 22445-22460, 22462-22495, 22498-22614, 22624, 22626- 22655, 22658-22685, 22687-22694, 22697-22707, 22709-22714, 22716-22762, 22764-22778, 22782-22787, 22800-22900, 22902-22914, 22919-23022, 23024-23065, 23067-23069, 23071-23077, 23090-23099, 23101-23111 и 23122-23127, или последовательности, по меньшей мере, на 75% идентичную аминокислотной последовательности из вышеперечисленных.

В одном воплощении в раскрытии предлагается композиция, содержащая по меньшей мере один полинуклеотид SAR, молекулу полипептида SAR, вектор SAR или экспрессирующую SAR клетку и фармацевтически приемлемый эксципиент. В одном

воплощении в раскрытии предлагается набор, содержащий по меньшей мере один полинуклеотид SAR, молекулу полипептида SAR, вектор SAR или экспрессирующую SAR клетку.

Краткое описание чертежей

Изобретение дополнительно описано на следующих неограничивающих фигурах.

На фигуре 1 показано схематическое изображение различных двухцепочечных моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR.

На фигуре 2 показано схематическое изображение различных двухцепочечных моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, содержащих различные формы AABD (например, vNH, SVH, aVH, аффибоди, центирин и т.п.).

Подробное описание

Далее будет подробно описано изобретение. В следующих параграфах различные аспекты изобретения определяются более подробно. Каждый аспект, определенный таким образом, может быть объединен с любым другим аспектом или аспектами, если явно не указано иное. В частности, любой признак, указанный как предпочтительный или выгодный, может быть объединен с любым другим признаком или признаками, указанными как предпочтительные или выгодные.

До тех пор, пока не установлено иное или ясно не следует из контекста, следующие термины и фразы включают значения, представленные ниже. До тех пор, пока ясно не установлено иное или не очевидно из контекста, термины и фразы, представленные ниже, не исключают значения, которое термин или фраза имеет приобрели в области техники, к которой они относятся. Определения представлены для помощи в описании конкретных воплощений и не предназначены для ограничения заявленного изобретения, так как объем изобретения ограничивается только формулой изобретения.

Если не определено иначе, то все технические и научные термины, использованные в данном документе, имеют тот же смысл, который вкладывается в них обычным специалистом области, к которой принадлежит настоящее изобретение.

Используемый в данной заявке термин «содержащий» или «содержит» используется в отношении композиций, способов и соответствующих их компонентов, которые полезны для воплощения, оставаясь открытыми для включения неопределенных элементов, которые являются или не являются применимыми. Специалистам в данной области техники будет понятно, что термины, используемые в данном документе, как правило, подразумеваются как «открытые» термины (например, термин «включающий» следует интерпретировать как «включающий, без ограничения указанным», термин «имеющий» следует толковать как «имеющий по меньшей мере», термин «включает»

следует толковать как «включает, без ограничения указанным» и т.п.).

Как правило, описанные в данной заявке номенклатуры и методы культивирования клеток и тканей, молекулярной биологии, иммунологии, микробиологии, генетики и химии белков и нуклеиновых кислот и гибридизации хорошо известны и широко используются в данной области техники. Способы и методы по настоящему раскрытию, как правило, выполняются в соответствии с обычными способами, хорошо известными в данной области техники, и как описано в различных общих и более конкретных источниках, которые цитируются и обсуждаются в настоящем описании, если не указано иное. См., например, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2013)). Ферментативные реакции и методы очистки проводят в соответствии со описаниями производителя, как это обычно делается в данной области техники или как описано в данном документе. Номенклатура, применяемая в этой связи, а также лабораторные процедуры и методы иммунологии, молекулярной биологии, аналитической химии, синтетической органической химии и медицинской и фармацевтической химии, описанные в данном документе, хорошо известна и широко применяется в данной области. Стандартные методы используются для химического синтеза, химического анализа, фармацевтического изготовления, приготовления и доставки, и для лечения пациентов.

Термин «около», когда он относится к измеряемому значению, такому как величина, временная длительность и т.п., подразумевает, что термин охватывает вариации $\pm 20\%$ или в некоторых случаях $\pm 10\%$, а в некоторых случаях $\pm 5\%$, или в некоторых случаях $\pm 1\%$ или в некоторых случаях $\pm 0,1\%$ от указанного значения, поскольку такие вариации являются подходящими для выполнения раскрытых способов или описания композиций данной заявки. Кроме того, любое значение или диапазон (например, менее 20 или аналогичная терминология) явно включает любое целое число между такими значениями или вплоть до данного значения. Так, например, «от одной до пяти мутаций» явно включает 1, 2, 3, 4 и/или 5 мутаций. Термин «по меньшей мере» относится к минимальному значению в диапазоне. Там, где «по меньшей мере» предшествует проценту, инкрементальные значения предполагаются в диапазоне от 0,1% до, например, 100% (в случае идентичности/гомологии).

«Антигенсвязывающий домен», или «антигенсвязывающий модуль», или «антигенсвязывающий сегмент», или «антигенспецифичный домен» (АСД) относится к полипептиду или пептиду, который благодаря своей первичной, вторичной или третичной последовательности, посттрансляционным модификациям и/или или заряду связывается с антигеном с высокой степенью специфичности. Антигенсвязывающий домен может быть

получен из различных источников, например, антитела (полноразмерная тяжелая цепь, Fab-фрагменты, одноцепочечные Fv-фрагменты (scFv), двухвалентные одноцепочечные антитела или диатела), неиммуноглобулинового связывающего белка, лиганда или рецептора. Однако существует множество альтернатив, таких как связанные цитокины (что приводит к распознаванию клеток, несущих цитокиновый рецептор), аффибоди, лиганд-связывающие домены из встречающихся в природе рецепторов, растворимый белковый/пептидный лиганд для рецептора (например, на опухолевой клетке), пептиды и вакцины для стимулирования иммунного ответа, каждая из которых может быть использована в различных воплощениях раскрытия. В некоторых воплощениях почти любая молекула, которая связывает данное родственное соединение или антиген с высокой аффинностью, может быть использована в качестве АСД, что будет понятно специалистам в данной области. В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен содержит рецепторы Т-клеток (TCR) или их части. В примерных воплощениях антиген-мишени и SEQ ID No различных антигенсвязывающих доменов представлены в данной заявке в таблицах 3-7. В примерных воплощениях антиген-мишень и SEQ ID NO vL, vH, scFv и их области CDR представлены в настоящей заявке в таблицах 6A-C патентной заявки PCT/US18/53247 и в таблицах 3-4 патентной заявки PCT/ US 19/035096, которые полностью включены в настоящую заявку ссылкой. vL, vH и scFv, которые можно использовать при конструировании SAR раскрытия, могут быть «полностью человеческими», «гуманизированными», «химерными» или нечеловеческими по происхождению. Примеры полностью человеческих vL, vH и scFv представлены SEQ ID NO: 10854, 11096 и 11338, соответственно. Примеры гуманизированных vL, vH и scFv представлены SEQ ID NO: 10839, 11082 и 11323, соответственно.

Термин «автономный антигенсвязывающий домен» или «AABD», используемый в настоящей заявке, относится к антигенсвязывающему домену, который может связываться с антигеном автономно, т.е. в отсутствие другого антигенсвязывающего домена. Примерный AABD представляет собой одиночный домен vH или автономный домен vH (aVH), обычно одиночный домен vH человека (SVH), который может связывать антиген в отсутствие домена vL. Примерный AABD представляет собой одиночный домен vL или автономный домен vL, обычно одиночный домен vL человека (SVL), который может связывать антиген в отсутствие домена vH. Другой примерный AABD представляет собой полностью человеческий домен vH (FHVH). AABD также относится к другим антигенсвязывающим доменам, которые могут автономно связывать антиген. В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, отличный от scFv. Примеры автономных антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFv, включают,

без ограничения указанным, домен vHH, гуманизированный домен vHH, svd-TCR и неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, такой как дарпин, аффибоди, домен ZIP (например, RZIP, EZIP, E4, R4 и т.п.), аффилин, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атример, центирин, пронектин, антикалин, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo или его фрагмент; лиганд-связывающий домен рецептора (например, CD16-V158A, NKG2D) или его фрагмент, рецептор-связывающий домен лиганда (например, APRIL, тромбозтин и т.п.) или его фрагмент, адаптер (например, RZIP, EZIP, E4, K4, NKG2D-YA, NKG2D-AF и т.п.) или их фрагмент, адаптор-связывающий белок (например, ULBP2R, ULBP2-S3 и т.п.) или его фрагмент, эпитоп или метку (например, Strep-метка, FLAG-метка и т.п.), аутоантиген или его фрагмент и т.п.

В раскрытии описано применение AABD, таких как домены VH человека, обычно несколько доменов VH человека, в качестве структурных элементов для создания моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR. В одном воплощении в раскрытии описано применение AABD, таких как домены VH человека, обычно несколько доменов VH человека, в качестве структурных элементов для получения моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных CAR, SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP и рекомбинантных TCR.

Термин «АСР» или «антигенсвязывающий рецептор», как описано в настоящей заявке, относится к любому рецептору, который имеет антигенсвязывающий домен. Антигенсвязывающий домен АСР может содержать scFv, vL, vH, VHH, антитело, фрагмент антитела (например, Fab), антителоподобный фрагмент, Va, Vβ, цитокин, рецептор и т.п. В одном воплощении АСР имеет трансмембранный или мембранный якорный домен, который позволяет ему экспрессироваться на клеточной поверхности. Примеры АСР включают CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, TFP, TRI-TAC или TAC и т.п. Рецепторы, маскирующие антиген, как описано в данном документе, также являются примерами АСР.

Термин «Ab-TCR» или «AbTCR» относится к платформе CAR следующего поколения, как описано в WO 2017/070608 A1, которая включена в настоящую заявку ссылкой. В одном воплощении Ab-TCR содержит фрагмент антитела, который специфически связывается с антигеном-мишенью, слитым с модулем TCR, способным рекрутировать по меньшей мере один сигнальный модуль TCR. Типичные модули TCR, которые можно использовать в конструировании Ab-TCR, представлены SEQ ID NO: 6009-6014 (таблица 6) и в WO 2017/070608 A1, которые включены в настоящую заявку ссылкой. В этом раскрытии предлагаются биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR, в которых каркас Ab-TCR включает один или несколько

AABD. Домены AABD из SAR раскрытия с каркасом Ab-TCR могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном из воплощений в раскрытии предлагается о Ab-TCR, содержащее один или несколько полностью человеческих доменов vH. В одном из воплощений Ab-TCR, содержащие один или несколько полностью человеческих доменов vL.

Термин «AABD-TCR» относится к новой двухцепочечной платформе SAR, описанной в этом раскрытии, в которой один или несколько AABD функционально связаны в рамке считывания с модулем TCR без присутствия промежуточной цепи vL, vH, Va, Vb, Vg и/или Vd. В предпочтительном воплощении изобретения AABD-TCR содержит Ig-подобный линкерный домен, который присутствует между модулями AABD и TCR. Модуль TCR из AABD-TCR способен задействовать по меньшей мере один сигнальный модуль TCR. Примеры AABD-TCR представлены SEQ ID NO (DNA): 6521 и 6530. Дополнительные AABD-TCR представлены в таблицах 33 и 34. Домены AABD из AABD-TCR могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном из воплощений в раскрытии предлагается AABD-TCR, содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vH. В одном из воплощений в раскрытии предлагается AABD-TCR, содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vL.

Термин «дополнительный модуль» относится к любому одному или нескольким из числа PDL1, PDL2, CD80, CD86, crmA, p35, hNEMO-K277A (or NEMO-K277A), hNEMO-K277A-delta-V249-K555, mNEMO-K270A, K13-opt, IKK2-S177E-S181E (or IKK2-SS/EE), IKK1-S176E-S180E (или IKK1-SS/EE), MyD88-L265P, TCL-1a, МTCP-1, CMV-141, 41BBL, CD40L, vFLIP-K13, MC159, cFLIP-L/MRIT α , cFLIP-p22, HTLV1 Tax, HTLV2 Tax, мутанта HTLV2 Tax-RS, FKBPx2-K13, FKBPx2-HTLV2-Tax, FKBPx2-HTLV2-Tax-RS, IL6R-304-vHH-Alb8-vHH, IL12f, PD1-4H1 scFV, PD1-5C4 scFV, PD1-4H1-Alb8-vHH, PD1-5C4-Alb8-vHH, CTLA4-ипилимумаб-scFv, CTLA4-ипилимумаб-Alb8-vHH, IL6-19A-scFV, IL6-19A-scFV-Alb8-vHH, sHVEM, sHVEM-Alb8-vHH, hTERT, Fx06, кшРНК, нацеленной на Brd4, IgSP-[hTRAC-opt2], IgSP-[hTRBC-opt2] и их комбинации, которые экспрессируется в иммунной клетке (например, Т-клетке, например, CAR-Т-клетке или TCR-Т-клетке) для снижения, регулирования или модификации активности иммунной клетки. В некоторых воплощениях дополнительный модуль коэкспрессируется с иммунным рецептором, таким как CAR или TCR, для увеличения, уменьшения, регулирования или модификации экспрессии или активности CAR, или TCR, или CAR-экспрессирующей или TCR-экспрессирующей клетке. Дополнительный модуль может быть коэкспрессирован с CAR или TCR с применением одного вектора или с

применением двух или более разных векторов. В другом воплощении вспомогательный модуль содержит гибридный белок FKBP (FK506-связывающий белок), такой как FKBPx2-NEMO, активность которого можно контролировать введением молекулы димеризатора. В некоторых воплощениях дополнительный модуль экспрессируется в антигенпрезентирующей клетке, например, в дендритной клетке.

Используемый в данном документе термин «аффибоди» относится к молекулам-миметикам антител, которые состоят из альфа-спиралей и не имеют дисульфидных связей. Примерное аффибоди, нацеленное на Her3, представлено SEQ ID NO: 11664. В данной области техники известны другие примерные аффибоди.

Используемый в данном документе термин «аффинность» предназначен для описания меры силы связывания. Аффинность в некоторых случаях зависит от близости стереохимического соответствия между связывающим агентом и его мишенью (например, между антителом и антигеном, включая эпитопы, специфичные для связывающего домена), от размера области контакта между ними и от распределение заряженных и гидрофобных групп. Аффинность обычно относится к «способности» связывающего агента связывать свою мишень. В данной области техники используются многочисленные способы измерения «аффинности». Например, в данной области известны способы расчета аффинности антитела к антигену, включая применение экспериментов по связыванию для расчета аффинности. Аффинность связывания можно определить с применением различных способов, известных в данной области, например, поверхностного плазмонного резонанса, интерферометрии биослоя, интерферометрии двойной поляризации, статического светорассеяния, динамического светорассеяния, изотермической титрационной калориметрии, ELISA, аналитического ультрацентрифугирования и проточной цитометрии. Примерный способ определения аффинности связывания использует поверхностный плазмонный резонанс. Поверхностный плазмонный резонанс — это оптическое явление, которое позволяет анализировать биоспецифичные взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений концентрации белка в матрице биосенсора, например, с применением системы VIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Уппсала, Швеция и Пискатауэй, Нью-Джерси). Используемый в настоящей заявке термин «специфическое связывание» означает контакт между антителом и антигеном с аффинностью связывания по меньшей мере 10^{-6} М. В некоторых аспектах антитела связываются с аффинностью по меньшей мере около 10^{-7} М, а обычно 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М.

Термин «антитело» в контексте настоящего описания относится к последовательности белка или полипептида, полученной из молекулы иммуноглобулина,

которая специфически связывается с антигеном. Антитела могут быть моноклональными или поликлональными, многоцепочечными или одноцепочечными или интактными иммуноглобулинами и могут быть получены из природных источников или из рекомбинантных источников. Антитела могут быть тетрамерами молекул иммуноглобулинов. Антитело может быть «полностью человеческим», «гуманизированным», «химерным» или нечеловеческим.

Используемый в данном документе термин «гуманизированное» антитело относится к формам нечеловеческих антител (например, мышинным), которые представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина нечеловеческого происхождения.

Используемые в данном документе термины «человеческое антитело» или «полностью человеческое антитело» означают антитело или фрагмент антитела, имеющие аминокислотную последовательность, соответствующую последовательности аминокислот антитела, продуцируемого человеком, и/или которое было получено с применением любого из методов получения человеческих антител, известных специалистам в данной области или раскрытых в настоящей заявке. Это определение человеческого антитела включает антитела, содержащие по меньшей мере один полипептид тяжелой цепи человека или по меньшей мере один полипептид легкой цепи человека.

Термин «химерное антитело» предназначен для обозначения антител, в которых последовательности вариабельной области происходят из одного вида, а последовательности константной области происходят от другого вида.

Термин «фрагмент антитела» относится по меньшей мере к одной части антитела, которая сохраняет способность специфически взаимодействовать (например, путем связывания, стерических затруднений, стабилизации/дестабилизации, пространственного распределения) с эпитопом антигена. Примеры фрагментов антител включают, без ограничения указанным, Fab, Fab', F(ab')₂, фрагменты Fv, фрагменты антитела scFv, дисульфидно-связанные Fv (sdFv), фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1, линейные антитела, однодоменные антитела, такие как sdAb (VL или VH), домены VHH верблюжьих, мультиспецифичные антитела, образованные из фрагментов антител, таких как двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области, и выделенный CDR или другие эпитопсвязывающие фрагменты антитела. Антигенсвязывающий фрагмент также может быть включен в

однодоменные антитела, макситела, минитела, нанотела, интратела, диатела, триатела, тетратела, v-NAR и bis-scFv (см., например, Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23: 1126-1136, 2005). Антигенсвязывающие фрагменты также могут быть привиты в каркасы на основе полипептидов, таких как фибронектин типа III (см. Патент США № 6703199, в котором описаны фибронектиновые полипептидные минитела).

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

Термин «легкая цепь антитела» относится к меньшим из двух типов полипептидных цепей, присутствующих в молекулах антител в их встречающихся в природе конформациях. Легкие цепи каппа (κ) и лямбда (λ) относятся к двум основным изотипам легких цепей антител.

«Противораковый агент» относится к агентам, которые ингибируют aberrантное клеточное деление и рост, ингибируют миграцию неопластических клеток, ингибируют инвазивность или предотвращают рост и метастазирование рака. Термин включает химиотерапевтические агенты, биологические агенты (например, миРНК, вирусные векторы, такие как сконструированный MLV, аденовирусы, вирус герпеса, которые доставляют цитотоксические гены), антитела и т.п.

Термин «противораковый эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, без ограничения указанным, уменьшением объема опухоли, уменьшением количества раковых клеток, уменьшением количества метастазов, увеличением ожидаемой продолжительности жизни, снижением пролиферации раковых клеток, снижением выживаемости раковых клеток или улучшение различных физиологических симптомов, связанных с раковым заболеванием. «Противоопухолевый эффект» также может проявляться способностью SAR в первую очередь предотвращать возникновение рака.

Термин «антиген» или «Ag» относится к молекуле, которая вызывает иммунный ответ. Этот иммунный ответ может включать либо выработку антител, либо активацию специфических иммунологически компетентных клеток, или то и другое. Специалист в данной области поймет, что любая макромолекула, включая практически все белки или пептиды, может служить антигеном. Кроме того, антигены могут быть получены из рекомбинантной или геномной ДНК. Специалисту в данной области техники будет понятно, что любая ДНК, которая содержит последовательность нуклеотидов или частичную последовательность нуклеотидов, кодирующую белок, вызывающий иммунный ответ, следовательно, кодирует «антиген», как этот термин используется в

данном документе. Кроме того, специалист в данной области поймет, что антиген не должен кодироваться исключительно полноразмерной нуклеотидной последовательностью гена. Раскрытие включает, без ограничения указанным, применение частичных нуклеотидных последовательностей более чем одного гена и то, что эти нуклеотидные последовательности расположены в различных комбинациях для кодирования полипептидов, вызывающих искомый иммунный ответ. Кроме того, специалист в данной области поймет, что антиген вовсе не должен кодироваться «геном». Совершенно очевидно, что антиген может быть синтезирован или получен из биологического образца, или может быть макромолекулой помимо полипептида. Такой биологический образец может включать, без ограничения указанным, образец ткани, образец опухоли, клетку или жидкость с другими биологическими компонентами.

Термин «антигенпредставляющая клетка» или «АРС» относится к клетке иммунной системы, такой как вспомогательная клетка (например, В-клетка, дендритная клетка и т.п.), которая экспонирует чужеродный антиген в комплексе с главными комплексами гистосовместимости (МНС) на его поверхности. Т-клетки могут распознавать эти комплексы, используя свои Т-клеточные рецепторы (TCR). APC обрабатывают антигены и презентуют их Т-клеткам.

Термин «противоинфекционный эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, без ограничения указанным, например, снижением титра инфекционного агента, уменьшением количества колоний инфекционного агента, улучшением различных физиологических симптомов, связанных с инфекционным состоянием. «Противоинфекционный эффект» также может проявляться способностью пептидов, полинуклеотидов, клеток и антител в первую очередь предотвращать возникновение инфекции.

Термин «противоопухолевый эффект» или «противоопухолевый эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, без ограничения указанным, например, уменьшением объема опухоли, уменьшением количества опухолевых клеток, снижением пролиферации опухолевых клеток, ингибирование метастазирования или снижение выживаемости опухолевых клеток.

Термин «константа ассоциации (Ka)» определяется как константа равновесия ассоциации рецептора и лиганда.

«Аутоантитело» относится к антителу, которое продуцируется В-клеткой, специфичной к аутоантигену.

Термин «аутоантиген» относится к эндогенному антигену, который стимулирует

выработку аутоиммунного ответа, такого как выработка аутоантител. Аутоантиген также включает собственный антиген или антиген из нормальной ткани, который является мишенью клеточно-опосредованного или антитело-опосредованного иммунного ответа, который может привести к развитию аутоиммунного заболевания. Примеры аутоантигенов включают, без ограничения указанным, десмоглеин 1, десмоглеин 3 и их фрагменты.

«Авидность» относится к силе взаимодействия между связывающим агентом и его мишенью (например, силе взаимодействия между антителом и его антигеном-мишенью, рецептором и его когнатным белком и т.п.). Авидность может быть слабой или сильной. Способы расчета аффинности антитела к антигену известны в данной области, включая применение экспериментов по связыванию для расчета аффинности. Активность антител в функциональных анализах (например, анализ проточной цитометрии или анализ Malibu-Glo) также отражает аффинность антител.

Используемый в данном документе термин «каркас» или «архитектура» относится к конфигурации различных компонентов (например, антигенсвязывающих доменов, шарнирных доменов, трансмембранных доменов, сигнальных доменов), которые содержат различные SAR (например, CAR, SIR, сTCR, Ab-TCR, TFP и т.п.) и/или любой вспомогательный модуль, который обычно не является обязательным. В примерном воплощении SAR может иметь каркас CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, двухцепочечный SIR, полуторный SIR, двухцепочечный сTCR, полуторачепочечный сTCR, zSIR, Ab-TCR, AABD-TCR, εTFP, γTFP, δTFP, αβTFP, γδTFP, TCR и т.п. SAR с определенным каркасом может иметь дополнительные подтипы, каждый из которых представляет другой каркас. Таким образом, SAR с каркасом двухцепочечного SIR может иметь дополнительные подтипы в зависимости от количества (моноспецифичный, биспецифичный, мультиспецифичный и т.п.) и характера (например, vL, vH, scFv, vHH, FHVH, дарпин и т.п.) его антигенсвязывающих доменов. Каждый из вышеперечисленных подтипов можно рассматривать как отдельный каркас. В примерном воплощении SAR на любом из каркасов может дополнительно коэкспрессировать дополнительный модуль (например, PAC, K13-opt, MC159, икаспаза 9 и т.п.). Таким образом, SAR с каркасом двухцепочечного SIR может коэкспрессироваться с K13-opt. В одном воплощении SAR и дополнительный модуль кодируются одной молекулой нуклеиновой кислоты. В другом воплощении SAR кодируется первой молекулой нуклеиновой кислоты, а дополнительный модуль кодируется второй молекулой нуклеиновой кислоты. В некоторых воплощениях дополнительный модуль кодируется более чем одной молекулой нуклеиновой кислоты, в зависимости от количества компонентов в дополнительных модулях. Два или более

компонентов SAR могут быть разделены расщепляемым линкером, таким как последовательность проскока рибосомы 2A (например, P2A, T2A, F2A и т.п.).

Таблица A1-1: Архитектуры/магистралей SAR. Обычные CAR первого поколения (обычный CAR I) имеют домен активации (AD) (например, CD3z) и не имеют костимулирующего домена (CD). Гибридные белки TCR (TFP) являются еще одним примером обычного CAR I. Обычные CAR второго поколения (обычный CAR 2 или CAR II) имеют один костимулирующий домен (например, 4-1BB или CD28) и домен внутриклеточного домена активации (AD) (например, CD3z). Обычные CAR третьего поколения (обычный CAR 3 или CAR III) имеют два костимулирующих домена (например, 4-1BB и CD28) и внутриклеточный домен активации (например, CD3z). Ab-TCR представляют собой двухцепочечные рецепторы, включающие домен vL-IgCL-линкер-TCR (TCRD и домен vH-Ig-CH1-линкер-TCR (TCRD)), и были описаны в PCT/US2016/058305. AABD-TCR представляют собой двухцепочечные рецепторы, описанные в данном описании, и обычно включают модуль AABD-IgCL-TCRD и модуль IgCH1-TCRD или модуль IgCL-TCRD и модуль AABD-IgCH1-TCRD, где TCRD являются комплементарными по своей природе (т.е., TCR α и TCR β или TCR γ и TCR δ). Биспецифичные и мультиспецифичные AABD-TCR также описаны в этом раскрытии и обычно включают модуль (AABD)n-IgCL-TCRD и модуль (AABD)n-IgCH1-TCRD, где TCRD являются комплементарными по своей природе (т.е. TCR α и TCR β или TCR γ и TCR δ). cTCR представляют собой одноцепочечные, полуторные или двухцепочечные рецепторы, состоящие из антигенсвязывающего домена, полученного из фрагмента vL и vH, которые объединяются с одной или несколькими константными цепями TCR (TCR-C), содержащими их нуклеиновую кислоту дикого типа и аминокислотные последовательности и приводят к активации передачи сигналов T-клетками. Различные конфигурации cTCR описаны в PCT/US2017/064379, WO 2018/102795 A1 и Gross et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA (1989) 86:10024-26. Синтетические иммунные рецепторы представляют собой CAR следующего поколения и описаны в PCT/US2017/064379 или WO 2018/102795 A1. zSIR представляют собой двухцепочечные рецепторы, содержащие две цепи CD3z или их фрагменты с необязательными линкерами, и описаны в PCT/US2019/035096.

1	CAR 1 или CAR I (включая TFP)	ASD	HR	TM	AD		
2	CAR 2 (CAR II)	ASD	HR	TM	CD	AD	
3	CAR 3 (CAR III)	ASD	HR	TM	CD-I	CSD-II	AD

4	Ab-TCR	vL-Ig-CL	TCRD(1)	2A	vH-Ig-CH1	TCRD (II)	
5	Двухцепочечный cTCR/SIR	vL	TCR-C(1)	2A	vH	TCR-C (II)	
6	Двухцепочечный zSIR	vL-линкер	CD3z	2A	vH-линкер	CD3z	
7	Полуторацепочечный cTCR/SIR		TCR-C(1)	2A	ASD	TCR-C (II)	
8	AABD-TCR	AABD-Ig-CL	TCRD(1)	2A	Ig-CH	TCRD(1)	

В таблицах с A1-1 по A1-9 представлены примерные архитектуры моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR согласно настоящему раскрытию. Используемые сокращения: SP (сигнальный пептид); AADB (автономный антигенсвязывающий домен); L (необязательный линкер); LL (длинный линкер), (AABD-L)n (n копий AABD с необязательным линкером, где n = 0, 1, 2, 3, 4 или более), AABD1-4 (различные AABD, нацеленные на один или несколько антигенов), V1 (цепи vL, vH, Va, Vb, Vg или Vd), Ig (линкер Ig), ConP (соединительный пептид), TM (трансмембранный домен), IC (внутриклеточный домен), Ca (константная цепь TCR α), Cb (константная цепь TCR β), Cg (постоянная цепь TCR γ), Cd (постоянная цепь TCR δ), scFv (вариантный одноцепочечный фрагмент), scTFv (одноцепочечный фрагмент, включающий два переменных фрагмента TCR, например, Va и Vb), dCa/dCb/dCg/dCd (концевая делеция константной цепи TCR α , β , γ или δ без их линкерного домена Ig), TCR-ConP (соединительный пептид константной цепи TCR α , β , γ или δ), Ca-ConP (связывающий пептид константной цепи TCR α), IgCL (линкер Ig из легкой цепи иммуноглобулина), IgCH1 (подобный Ig из тяжелой цепи иммуноглобулина), CD3 $\epsilon\gamma\delta$ ECD (внеклеточный домен CD3 ϵ , γ или δ цепей), CD (костимулирующий домен), 4-1BB (костимулирующий домен 4-1BB), CD28 (костимулирующий домен 4-1BB), CD28 (костимулирующий домен CD28), CD3z (активационный домен CD3z).

Таблица A1-2. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные архитектуры SAR														
Класс SAR														
1	SP	L	(AABD-L)n	V1	L	Ig	ConP	TM	IC					
2	SP	L	(AABD-L)n	V1	L	L	ConP	TM	IC					
3	SP	L	AABD1	L	V1	L	Ig	ConP	TM	IC				
4	SP	L	AABD1	L	AABD2	L	V1	L	Ig	ConP	TM	IC		

5	SP	L	AABD 1	L	AABD 2	L	AAB D3	L	AA BD4	L	V1	L	I g	Con P	T M	I C
6	SP	L	AABD 1	L	V1	L	LL	Con P	TM	IC						
7	SP	L	AABD 1	L	AABD 2	L	V1	L	LL	Co nP	T M	IC				
8	SP	L	AABD 1	L	AABD 2	L	AAB D3	L	AA BD4	L	V1	L	L L	Con P	T M	I C

Таблица A1-3. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с каркасом DC-SIR или TCR (включая HLA-независимый TCR)

Класс SAR						
1	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	C-abgd (TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	C-abgd (TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)
2	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Cb (TCR β -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ca (TCR α -константная цепь)
3	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Ca (TCR α -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Cb (TCR β -константная цепь)
4	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
5	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
6	SP	L	(AABD-L)n	Va	L	Cb (TCR β -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vb	L	Ca (TCR α -константная цепь)
7	SP	L	(AABD-L)n	Va	L	Ca (TCR α -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vb	L	Cb (TCR β -константная цепь)
8	SP	L	(AABD-L)n	Vg	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vd	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
9	SP	L	(AABD-L)n	Vd	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vg	L	Cg (TCR γ -константная цепь)

Таблица A1-4. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с гибридным каркасом

Класс SAR						
1	SP	L	(AABD-L)n	vL/vH	L	C-abgd (TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Va/b/c/d	L	C-abgd (TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)
2	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Cb (TCR β -константная цепь)

	SP	L	(AABD-L)n	Vb	L	Ca (TCR α -константная цепь)
3	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ca (TCR α -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Va	L	Cb (TCR β -константная цепь)
4	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vb	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
5	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vg	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
6	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Cb (TCR β -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vd	L	Ca (TCR α -константная цепь)
7	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ca (TCR α -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vg	L	Cb (TCR β -константная цепь)
8	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vd	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
9	SP	L	(AABD-L)n	Va	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n	Vg	L	Cg (TCR γ -константная цепь)

Таблица А1-5. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с каркасом полторацепочечного-SIR

Класс SAR						
1	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	C-abgd (TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n		L	C-abgd (TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)
2	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Cb (TCR β -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n		L	Ca (TCR α -константная цепь)
3	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Ca (TCR α -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n		L	Cb (TCR β -константная цепь)
4	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Cg (TCR γ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n		L	Cd (TCR δ -константная цепь)
5	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Cd (TCR δ -константная цепь)
	SP	L	(AABD-L)n		L	Cg (TCR γ -константная цепь)

Таблица А1-6. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с каркасом Ab-TCR

Класс SAR									
1	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Ig (Линкер Ig)	TCR-ConP	TM	IC
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ig (Линкер Ig)	TCR-ConP	TM	IC
2	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	TCR-ConP	TM	IC
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ig-CH1	TCR-ConP	TM	IC
3	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	Ca-ConP	TM	IC
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	IgG1-CH1	Cb-ConP	TM	IC
4	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	Cb-ConP	TM	IC
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	IgA1-CH1	Ca-ConP	TM	IC
5	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	Cg-ConP	TM	IC
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	IgD-CH1	Cd-ConP	TM	IC
6	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	Cd-ConP	TM	IC
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	IgM-CH1	Cg-ConP	TM	IC
7	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	Ig (Линкер Ig)	dC (удаленный TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)		
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ig (Линкер Ig)	dC (удаленный TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)		
8	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	dCa (удаленный TCR α константная цепь)		
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ig-CH1	dCb (удаленный TCR β константная цепь)		
9	SP	L	(AABD-L)n	vL	L	IgCL	dCg (удаленный TCR γ константная цепь)		
	SP	L	(AABD-L)n	vH	L	Ig-CH1	dCd (удаленный TCR δ константная цепь)		

Таблица А1-7. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с каркасом AABD-TCR

Класс SAR														
1	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig	Con P	TM	IC						
2	SP	L	AABD1	L	Ig	Con P	TM	IC						
3	SP	L	AABD1	L	AABD2	L	Ig	Con P	TM	IC				
4	SP	L	AABD1	L	AABD2	L	AABD3	L	Ig	Con P	TM	IC		
5	SP	L	AABD1	L	AABD2	L	AABD3	L	AABD4	L	Ig	Con P	TM	IC
6	SP	L	(AABD-L)n	L	LL	Con	TM	IC						

			L)n			P								
7	SP	L	AABD1	L	LL	Con P	TM	IC						
8	SP	L	AABD1	L	AABD 2	L	LL	Con P	TM	IC				
9	SP	L	AABD1	L	AABD 2	L	AAB D3	L	LL	Con P	T M	IC		
10	SP	L	AABD1	L	AABD 2	L	AAB D3	L	AA BD4	L	LL	Con P	T M	I C

Таблица А1-8. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с каркасом AABD-TCR

Класс SAR									
1	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig (Линкер Ig)	TCR-ConP	TM	IC	
	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig (Линкер Ig)	TCR-ConP	TM	IC	
2	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	TCR-ConP	TM	IC	
	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig-CH1	TCR-ConP	TM	IC	
3	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	Ca-ConP	TM	IC	
	SP	L	(AABD-L)n	L	IgG1-CH1	Cb-ConP	TM	IC	
4	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	Cb-ConP	TM	IC	
	SP	L	(AABD-L)n	L	IgA1-CH1	Ca-ConP	TM	IC	
5	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	Cg-ConP	TM	IC	
	SP	L	(AABD-L)n	L	IgD-CH1	Cd-ConP	TM	IC	
6	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	Cd-ConP	TM	IC	
	SP	L	(AABD-L)n	L	IgM-CH1	Cg-ConP	TM	IC	
7	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig (Линкер Ig)	dC (удаленный TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)			
	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig (Линкер Ig)	dC (удаленный TCR $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ константная цепь)			
8	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	dCa (удаленный TCR α константная цепь)			
	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig-CH1	dCb (удаленный TCR β константная цепь)			
9	SP	L	(AABD-L)n	L	IgCL	dCg (удаленный TCR γ константная цепь)			
	SP	L	(AABD-L)n	L	Ig-CH1	dCd (удаленный TCR δ константная цепь)			

Таблица А1-9. Примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR с каркасом одноцепочечного CAR, TFP и scTFv-CAR										
Класс SAR										
1	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	LL	TM	AD		
2	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Шарнир	TM	AD		
3	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	CD3εγδ ECD	TM	AD		
4	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	LL	TM	(CD)n	AD	
5	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Шарнир	TM	(CD)n	AD	
6	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	CD3εγδ ECD	TM	(CD)n	AD	
7	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	LL	TM	CD1	CD2	AD
8	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	Шарнир	TM	CD1	CD2	AD
9	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	CD3εγδ ECD	TM	CD1	CD2	AD
10	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	CD8-Шарнир	CD8-TM	4-1BB	CD3z	
11	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	CD28-Шарнир	CD28-TM	CD28	CD3z	
12	SP	L	(AABD-L)n	scFv	L	CD3ε-ECD	CD3e-TM	4-1BB	CD3z	
13	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	LL	TM	AD		
14	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	Шарнир	TM	AD		
15	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	CD3εγδ ECD	TM	AD		
16	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	LL	TM	(CD)n	AD	
17	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	Шарнир	TM	(CD)n	AD	
18	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	CD3εγδ ECD	TM	(CD)n	AD	
19	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	LL	TM	CD1	CD2	AD
20	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	Шарнир	TM	CD1	CD2	AD
21	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	CD3εγδ ECD	TM	CD1	CD2	AD
22	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	CD8-Шарнир	CD8-TM	4-1BB	CD3z	
23	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	CD28-Шарнир	CD28-TM	CD28	CD3z	
24	SP	L	(AABD-L)n	scTFv	L	CD3ε-ECD	CD3e-TM	4-1BB	CD3z	

Используемый в данном документе термин «полезные результаты» может включать, без ограничения указанным, уменьшение или облегчение тяжести болезненного состояния, предотвращение ухудшения болезненного состояния, излечение болезненного состояния, предотвращение развития болезненного состояния, снижение шансов у пациента развития болезненного состояния и продление жизни пациента или ожидаемой продолжительности жизни.

В другом воплощении молекула антитела представляет собой молекулу мультиспецифичного антитела, например, она содержит множество последовательностей переменных доменов иммуноглобулина, где первая последовательность переменного

домена иммуноглобулина из множества обладает специфичностью связывания в отношении первого эпитопа, а вторая последовательность переменного домена иммуноглобулина множество обладает специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В другом воплощении молекула мультиспецифичного антитела представляет собой молекулу биспецифичного антитела. Биспецифическое антитело обладает специфичностью к двум антигенам. Молекула биспецифичного антитела характеризуется первой последовательностью переменного домена иммуноглобулина, которая имеет специфичность связывания для первого эпитопа, и второй последовательностью переменного домена иммуноглобулина, которая имеет специфичность связывания для второго эпитопа. Биспецифическая молекула может представлять собой биспецифическое антитело, взаимодействующее с Т-клетками, в котором первый антигенсвязывающий домен связывается с антигеном (например, CD3ε), экспрессируемым на Т-клетках, а второй антигенсвязывающий домен связывается с антигеном, экспрессируемым на вызывающей заболевание или связанной с заболеванием клетке (например, раковой клетке). Биспецифичные антитела можно использовать для индуцирования опосредованной Т-клетками цитотоксичности против клеток, экспрессирующих антиген-мишень, распознаваемый их вторым антигенсвязывающим доменом. Новые антигенсвязывающие домены, описанные в данном описании, можно использовать для конструирования биспецифичных рекрутеров Т-клеток.

«Связывает тот же эпитоп» означает способность антитела, scFv или другого антигенсвязывающего домена связываться с антигеном-мишенью и иметь тот же эпитоп, что и приведенное в качестве примера антитело, scFv или другой антигенсвязывающий домен. Например, эпитопы приведенного в качестве примера антитела, scFv или другого связывающего агента и других антител можно определить с применением стандартных методов картирования эпитопов. Способы картирования эпитопов, хорошо известные в данной области, включают протоколы картирования эпитопов в *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey. К примеру, линейные эпитопы можно определить, например, путем одновременного синтеза большого количества пептидов на твердых носителях, пептидов, соответствующих частям белковой молекулы, и реакции пептидов с антителами, когда пептиды все еще функционально связаны с носителями. Такие методы известны в данной области и описаны, например, в пат. США № 4708871; Geysen et al, (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:3998-4002; Geysen et al. (1985) *Mol. Natl. Acad. Sci. USA* 82:78-182; Geysen et al, (1986) *Mol. Immunol.* 23: 709-715. Эпитоп, связанный антигенсвязывающим доменом CAR, также можно определить с помощью анализа связывания эпитопов. Эпитоп-

специфическая сортировка — это конкурентный иммуноанализ, используемый для характеристики и последующей сортировки библиотеки моноклональных антител против целевого белка. Антитела против аналогичной мишени тестируют против всех других антител в библиотеке попарно, чтобы увидеть, блокируют ли антитела связывание друг друга с эпитопом антигена. После создания профиля каждого антитела против всех других антител в библиотеке для каждого антитела создается профиль конкурентного блокирования относительно других в библиотеке. Близкие профили эпитоп-специфической сортировки указывают на то, что антитела имеют один и тот же или близкородственный эпитоп и «сгруппированы» вместе. Точно так же конформационные эпитопы легко идентифицируются путем определения пространственной конформации аминокислот, например, путем обмена водород/дейтерий, рентгеновской кристаллографии и двумерного ядерного магнитного резонанса. См., например, протоколы картирования эпитопов, выше. Антигенные области белков также могут быть идентифицированы с применением стандартных графиков антигенности и гидропатии, таких как те, которые рассчитаны с применением, например, программного обеспечения Omega версии 1.0, доступного у Oxford Molecular Group. В этой компьютерной программе используется способ Hopp/Woods, Hopp et al., (1981) Proc. Natl. Acad. Sci USA 78:3824-3828; для определения профилей антигенности и метод Kyte-Doolittle, Kyte et al., (1982) J.Mol. Biol. 157:1 05-132; для графиков гидропатии. Чтобы определить, связываются ли выбранные моноклональные антитела против мишени (например, CD19) с уникальными эпитопами, каждое антитело можно биотинилировать с применением имеющихся в продаже реагентов (Pierce, Рокфорд, Иллинойс). Конкурентные исследования с применением немеченых моноклональных антител и биотинилированных моноклональных антител можно проводить с применением планшетов для ELISA, покрытых внеклеточным доменом CD19. Связывание биотинилированных mAb можно обнаружить с помощью зонда стрепавидин-щелочная фосфатаза. Примерные эпитопы антигена CD20 человека, связанные с scFv, SAR, антителами и другими иммунотерапевтическими средствами согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 15149-15154 патентной заявки PCT/US18/53247, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой. Примерные эпитопы антигена CD20 человека, связанные с scFv, SAR, антителами и другими иммунотерапевтическими средствами согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 15155-15159 патентной заявки PCT/US18/53247, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой. Пример эпитопа человеческого антигена MPL, связанного с scFv, SAR и антителами согласно настоящему описанию, представлен в SEQ ID NO: 15160 патентной заявки PCT/US18/53247, которая полностью включена в настоящую заявку

ссылкой.

Используемый в данном документе термин «биологический эквивалент» или «вариант» или «функциональный вариант» является синонимом термина «его эквивалент», когда речь идет об референсном белке, антителе или его фрагменте, полипептиде или нуклеиновой кислоте, имея в виду те, которые имеют минимальную гомологию, но при этом сохраняют желаемую структуру или функциональность. Если специально не указано в данном документе, предполагается, что любой из вышеперечисленных также включает их эквиваленты. Например, эквивалент подразумевает не менее чем около 70% гомологии или идентичности, или не менее 80% гомологии или идентичности, и альтернативно, или не менее чем около 85%, или альтернативно не менее чем около 90%, или альтернативно не менее чем около 95%, или альтернативно по меньшей мере 98% гомологии или идентичности и проявляет по существу эквивалентную биологическую активность референсному белку, полипептиду, антителу или его фрагменту, или нуклеиновой кислоте. В ином случае, когда речь идет о полинуклеотидах, их эквивалентом является полинуклеотид, который гибридизуется в жестких условиях с референсным полинуклеотидом или его комплементом. Альтернативно, когда речь идет о полипептидах или белках, их эквивалентом является экспрессированный полипептид или белок из полинуклеотида, который гибридизуется в жестких условиях с полинуклеотидом или комплементарной ему последовательности, кодирующим референсный полипептид или белок.

Используемый в данном документе термин «биспецифичный» относится к агенту (например, антителу, фрагменту антитела, SAR, CAR и т.п.), который может связываться с двумя антигенами.

Используемый в данном документе термин «бипаратопный» относится к агенту (например, антителу, фрагменту антитела, SAR, CAR и т.п.), который может связываться с двумя эпитопами антигена.

Используемый в данном документе термин «мультиспецифичный» относится к агенту (например, антителу, фрагменту антитела, SAR, CAR и т.п.), который может связываться более чем с двумя антигенами.

Используемый в данном документе термин «CDR» или «область, определяющая комплементарность», предназначен для обозначения несмежных сайтов связывания антигена, обнаруженных в вариабельной области полипептидов как тяжелой, так и легкой цепи. Эти конкретные области были описаны Kabat et al., *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, «Sequences of proteins of immunological interest» (1991); Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); и MacCallum

et al., J. Mol. Biol. 25 262:732-745 (1996), где определения включают перекрывающиеся аминокислотные остатки или поднаборы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. Тем не менее, предполагается, что применение любого определения для обозначения CDR антитела или привитых антител или их вариантов находится в пределах объема термина, как определено и использовано в настоящей заявке. При использовании в данном документе, различные CDR антитела также могут быть определены комбинацией различных определений. Например, VHCDR1 может быть определен на основе Kabat, а VHCDR2 может быть определен на основе Chothia. Аминокислотные остатки, которые охватывают CDR, определенные в каждом из процитированных выше источников, являются следующими:

ОПРЕДЕЛЕНИЯ CDR

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

(Номера остатков соответствуют идентифицированному эталону).

SEQ ID CDR различных сегментов vL и vH, которые могут составлять антигенсвязывающие домены scFv, CAR, AMR, антител и других иммунотерапевтических средств согласно настоящему описанию, представлены SEQ ID NO: 13204-14121 и SEQ ID NO: 14122-15039, соответственно (таблицы 6A, B) PCT/US18/53247 и в таблицах 5-6 PCT/US2017/064379, которые включены в настоящую заявку ссылкой.

В некоторых воплощениях ссылка на антигенсвязывающий модуль (такой как Fab-подобный или Fv-подобный антигенсвязывающий модуль), который специфически связывается с антигеном-мишенью, означает, что антигенсвязывающий модуль связывается с антигеном-мишенью с помощью (а) аффинность, которая по меньшей мере примерно в 10 (например, примерно в 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 или более) раз превышает аффинность связывания с другими молекулами; или (b) Kd примерно не более чем в 1/10 (например, 1/10, 1/20, 1/30, 1/40, 1/50, 1/75, 1/100, 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/750, 1/1000 или менее) раз превышает Kd для связывания с другими молекулами. Аффинность связывания можно определить способами, известными в данной области, такими как ELISA, анализ сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), анализ Malibu-Glo, анализ Toranga или радиоиммунопреципитационный анализ

(РИА). Кd можно определить способами, известными в данной области, такими как анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с применением, например, инструментов Biacore или анализ кинетического исключения (KinExA) с применением, например, инструментов Sapidyne.

«Рак» и «раковый» относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым ростом клеток. Примеры рака включают, без ограничения указанным, В-клеточные лимфомы (лимфомы Ходжкина и/или неходжкинские лимфомы), Т-клеточные лимфомы, миелому, миелодиспластический синдром, миелопролиферативные заболевания (например, истинную полицитемию, миелофиброз, эссенциальную тромбоцитемию и т.п.), рак кожи, опухоль головного мозга, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак пищевода, рак анального канала, рак неизвестной первичной локализации, эндокринный рак, рак яичек, рак легкого, гепатоцеллюлярный рак, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичников, рак, рак печени, рак мочевого пузыря, рак мочевыводящих путей, рак репродуктивных органов, рак щитовидной железы, рак почки, карциному, меланому, рак головы и шеи, рак головного мозга (например, мультиформную глиобластому), рак предстательной железы, включая, без ограничения указанным, андрогензависимый рак предстательной железы и андрогеннезависимый рак предстательной железы и лейкоз. Другие раковый заболевания и расстройства, связанные с пролиферацией клеток, будут легко распознаны в данной области. Термины «опухоль» и «рак» используются в данном документе взаимозаменяемо, например, оба термина охватывают твердые и жидкие, например, диффузные или циркулирующие опухоли. Используемый в данном документе термин «рак» или «опухоль» включает предзлокачественные, а также злокачественные виды рака и опухолей. Предполагается, что термин «рак» включает все типы злокачественного роста или онкогенных процессов, метастатических тканей или злокачественно трансформированных клеток, тканей или органов, независимо от гистопатологического типа или стадии инвазии.

«Клеточная терапия», или «терапия на основе клеток», или «Терапия иммунными клетками», или «Терапия иммунными эффекторными клетками», или «адоптивная клеточная терапия» относится к терапии, которая включает применение клеток для профилактики или лечения заболевания. Неограничивающие примеры клеточной терапии включают терапию CAR-T-клетками, терапию NK-клетками, терапию рекомбинантными TCR-T-клетками, TIL (инфильтрирующие опухоли лимфоциты). Биологические агенты, такие как антитела (например, биспецифичные активаторы Т-клеток и DART и т.п.),

которые опосредуют свое действие путем связывания и/или активации иммунных клеток (например, Т-клеток и НК-клеток), являются другими примерами клеточной терапии. Трансплантация стволовых клеток и органов, включая аутологичные и аллогенные трансплантаты крови и костного мозга, также являются примерами клеточной терапии.

Используемый в данном документе термин «центририн» относится к небольшим сконструированным белкам, полученным из белка человека, тенасцина С, которые могут связываться с интересующим антигеном с высокой аффинностью и специфичностью. центририны имеют высокостабильный домен фибронектина типа III (FN3). Примерные центририны приведены в таблице 7.

«Химиотерапевтические агенты» представляют собой соединения, которые, как известно, используются в химиотерапии рака. Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов могут включать алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид СУТОХАН®; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; камптотецин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид мехлорэтамину оксида, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацил иприт; нитромочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как эндиновые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гаммаII и калихеамицин омегаII (см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также неокарзиностагин хромофор и родственные хромопротеиновые эндиновые антибиотические хромофоры), аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабин, каминомицин, карзинофилин, хромомицин, дактиномицин, даунорубин, деторубин, 6-диазо-L-норлейкозин, доксорубин ADRIAMYCIN® (включая морфолино-доксорубин, цианоморфолино-доксорубин, 2-пирролино-доксорубин и дезоксидоксорубин), эпирубин, эзорубин, идарубин, марцеломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицин, пурамицин, перомицин, петромицин келамицин, родорубин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностагин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-ФУ); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин,

флорсуридин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестолактон; средства против надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамидный гликозид; аминолевулиновая кислота; энилурацил; амсакрин; бесстрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефамин; демеколцин; диазиквон; эльформитин; ацетат эллиптиния; эпотилон; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидаинин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитраэрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лосоксантрон; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK® (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ара-С»); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел TAXOL® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси), ABRAXANE®, не содержащий кремофора, состав паклитаксела, сконструированный с применением альбумина (American Pharmaceutical Partners, Шомберг, Иллинойс), и доксетаксел TAXOTERE® (Rhone-Poulenc Rorer, Антони, Франция); хлоранбуцил; GEMZAR® гемцитабин; б-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; навельбин; винорелбин; новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; иринотекан (камптосар, СРТ-11); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (DMFO); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; комбретастин; лейковорин (LV); оксалиплатин, лапатиниб (Тикерб); ингибиторы PKC-альфа, Raf, H-Ras, EGFR (например, эрлотиниб (Tarceva®)) и VEGF-A, которые снижают пролиферацию клеток, и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных или их комбинации.

«Химерные антигенные рецепторы» (CAR) представляют собой искусственные (не встречающиеся в природе) рецепторы иммунных клеток (например, Т-клеток), которые предполагается использовать в качестве терапии рака с применением метода, называемого адоптивным переносом клеток. CAR также известны как искусственные Т-клеточные рецепторы, химерные Т-клеточные рецепторы или химерные иммунорецепторы. CAR сконструированы специально для стимуляции активации и пролиферации Т-клеток в ответ на специфичный антиген, с которым связывается CAR. Как правило, CAR относится

к набору полипептидов, обычно два в простейших воплощениях, которые при экспрессии в иммунной эффекторной клетке обеспечивают клетке специфичность в отношении клетки-мишени, обычно раковой клетки, и генерацию внутриклеточного сигнала. В некоторых воплощениях CAR содержит по меньшей мере внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и цитоплазматический сигнальный домен (также называемый в настоящей заявке «внутриклеточный сигнальный домен»), содержащий функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы и/или костимулирующей молекулы. В некоторых аспектах наборы полипептидов граничат друг с другом. В одном аспекте стимулирующей молекулой является дзета-цепь, связанная с комплексом Т-клеточного рецептора. В одном аспекте цитоплазматический сигнальный домен дополнительно содержит один или несколько функциональных сигнальных доменов, полученных по меньшей мере из одной костимулирующей молекулы, как определено ниже. В одном воплощении костимулирующая молекула выбрана из костимулирующих молекул, описанных в настоящей заявке, например, 4-1BB (т.е. CD137), CD27 и/или CD28. В одном воплощении CAR содержит необязательную лидерную последовательность на амино-конце (N-конец) гибридного белка CAR. В некоторых воплощениях CAR дополнительно включает лидерную последовательность на N-конце внеклеточного антигенсвязывающего домена, где лидерная последовательность необязательно отщепляется от антигенсвязывающего домена (например, scFv) во время клеточного процессинга и локализации CAR в клеточной мембране. В различных воплощениях CAR представляют собой рекомбинантные полипептиды, содержащие антиген-специфичный домен (АСД), шарнирную область (ШО), трансмембранный домен (ТМД), необязательный костимулирующий домен (КСД) и внутриклеточный сигнальный домен (ВСД). Необязательный костимулирующий домен обычно отсутствует в конструкциях CAR 1-го поколения. Последовательности нуклеиновых кислот нескольких типичных CAR 2-го поколения, содержащих различные антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vHH, лиганды и рецепторы и т.п.) и включающих костимулирующий домен 41BB, представлены SEQ ID NO: 1455-1703 (таблица 8) в PCT/US2020/014237. Соответствующие аминокислотные последовательности представлены SEQ ID NO: 7341-7589 PCT/US2020/014237. В одном воплощении биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные CAR.

Термин SAR, используемый в данном документе, включает CAR, а также охватывает новые подходы к приданию антигенной специфичности клеткам, такие как химерные молекулы антитело-TCR или Ab-TCR (WO 2017/070608 A1, включенный в

настоящую заявку ссылкой), гибридные белки рецептора TCR или TFP (WO 2016/187349 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой), синтетические иммунные рецепторы (SIR) (см. WO 2018/102795 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой), трифункциональный соединитель Т-клеточного антигена (Tri-TAC или TAC) (см. WO 2015/117229 A1, включенный в настоящую заявку ссылкой) и zSIR (см. PCT/US2019/035096, включенный в настоящую заявку ссылкой). Последовательности нуклеиновых кислот нескольких примерных TFP, содержащих различные антигенсвязывающие домены (например, фрагменты vL и vH, vHH, лиганды и рецепторы и т.п.), основанные на цепях CD3ε, CD3δ, CD3γ и CD3ζ и совместно экспрессирующие необязательный вспомогательный модуль NEMO-K277A представлены SEQ ID NO: 1900-2205, 2206-2511, 2512-2817, 2818-3123, соответственно (таблица 13) документа PCT/US18/53247, который полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Порядок антигенсвязывающих доменов, содержащихся в конструкции различных архитектур CAR и BiTE, перечисленных в Таблице 13 документа PCT/US18/53247, который полностью включен в настоящую заявку ссылкой, такой же, как порядок конструкций на архитектуре zCAR-K277A представленный в таблице 12 документа PCT/US18/53247, который полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Как правило, термин «SAR-Т-клетка» используется для обозначения Т-клеток, которые были сконструированы для экспрессии синтетического антигенного рецептора. Таким образом, Т-лимфоциты, несущие такие SAR, обычно называют SAR-Т-лимфоцитами. Если SAR представляет собой CAR, то Т-клетки называются CAR-Т-клетками. SAR также могут экспрессироваться в клетках, отличных от Т-клеток, таких как гемопоэтические стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), НК-клетки и макрофаги. В этом раскрытии предлагаются биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR с каркасом из CAR, SIR, zSIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP, TCR и т.п., включающих один или несколько AABD. AABD-домены SAR на любом из вышеуказанных каркасов могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном из воплощений в раскрытии предлагается SAR на любом из вышеуказанных каркасов, содержащих один или несколько полностью человеческих доменов vH. В одном из воплощений в раскрытии предлагается SAR на любом из вышеуказанных каркасов, содержащих один или несколько полностью человеческих vL-доменов.

«Оптимизация кодонов» или «контроль видового предпочтения кодонов» относится к предпочтительному использованию кодонов конкретной клеткой-хозяином. Как будет понятно специалистам в данной области, модификация кодирующей последовательности может быть полезной для усиления ее экспрессии у конкретного

хозяина.

Используемый в данном документе термин «коэкспрессия» относится к экспрессии двух или более полинуклеотидов или генов. Гены могут быть нуклеиновыми кислотами, кодирующими, например, один белок или химерный белок в виде одиночной полипептидной цепи. SAR или TCR, описанные в настоящей заявке, могут кодироваться одной полинуклеотидной цепью и экспрессироваться в виде одной полипептидной цепи, которая впоследствии расщепляется на разные полипептиды, каждый из которых представляет собой отдельную функциональную единицу. В некоторых воплощениях, где SAR или TCR состоят из двух или более функциональных полипептидных единиц, различные функциональные единицы коэкспрессируются с применением одной или нескольких полинуклеотидных цепей. В одном воплощении костимуляция обеспечивается вспомогательным модулем, который коэкспрессируется с SAR или TCR, но не является составной частью полипептида SAR или TCR. В другом воплощении разные полинуклеотидные цепи связаны последовательностями нуклеиновых кислот, которые кодируют расщепляемые линкеры (например, T2A, F2A, P2A, E2A и т.п.) (таблица 20). В другом воплощении мотив Ser-Gly-Ser-Gly (SGSG) (SEQ ID NO: 1239 и 11929) также добавляется выше расщепляемых линкерных последовательностей для повышения эффективности расщепления. Полинуклеотиды, кодирующие различные единицы SAR или TCR, могут быть связаны последовательностями IRES (участок внутренней посадки рибосомы, англ. Internal Ribosome Entry Site). Альтернативно, разные функциональные единицы SAR или TCR кодируются двумя разными полинуклеотидами, которые не связаны линкером, а вместо этого кодируются, например, двумя разными векторами. Последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот типичных расщепляемых линкеров и сайтов расщепления фурином представлены в Таблице 20.

«Консервативная замена» или «консервативные модификации последовательности» относится к модификациям аминокислот, которые существенно не влияют или не изменяют характеристики связывания или функцию кодируемого белка. Например, «консервативные модификации последовательности» относятся к модификациям аминокислот, которые существенно не влияют или не изменяют характеристики связывания или функцию SAR-конструкции раскрытия (например, консервативное изменение в константной цепи, антители, фрагменте антитела или неиммуноглобулиновых связывающихся доменах). Такие консервативные модификации включают аминокислотные замены, добавления и делеции. Модификации могут быть введены стандартными методами, известными в данной области, такими как сайт-направленный мутагенез и мутагенез, опосредованный ПЦР. Консервативные

аминокислотные замены представляют собой замены аминокислотного остатка аминокислотным остатком, имеющим аналогичную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих похожие боковые цепи, известны с данной области. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотные боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Таким образом, один или несколько аминокислотных остатков в SAR раскрытия могут быть заменены другими аминокислотными остатками из того же семейства боковых цепей, и измененный SAR можно протестировать с применением анализов связывания и/или функциональных анализов, описанных в настоящей заявке.

Термин «константная цепь TCR» или «константная область T-клеточного рецептора» определяется как константная цепь TCR α /TCR α , TCR β 1/TCR β 1, TCR β 2/TCR β 2, TCR γ /TCR δ , TCR δ /TCR δ и пре-TCR α . Примеры константных цепей TCR перечислены в таблице 12. Константную цепь TCR можно разделить на несколько субдоменов, таких как Ig-подобный домен C1 (например, SEQ ID NO: 11848-11865; таблица 13), соединительный пептид (например, SEQ ID NO: 11867-11875; таблица 14), трансмембранный домен (SEQ ID NO: 11877-11880; таблица 15) и цитозольный домен (например, SEQ ID NO: 11883-11885; таблица 16). Цитозольные домены цепей TCR α , TCR β 1/ β 2, TCR γ и TCR δ короткие, и обычно считается, что они не играют существенной роли в их сигнальной активности. В раскрытии также предлагаются делеционные мутанты и варианты цепей TCR, перечисленных в Таблице 12, при условии, что они сохраняют одно или несколько функциональных и биологических свойств цепей TCR, таких как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR, способность собираться с комплексом TCR/CD3 и способностью передавать сигнал T-клеток (например, активировать путь NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень.

Термин «константная область T-клеточного рецептора-альфа» или «константная цепь T-клеточного рецептора-альфа», или «TCR α », или «C α » определяется как белок, представленный SEQ ID NO: 11735 или 11733, или эквивалентные остатки (т.е. гомолог или вариант) из видов, отличных от человека, например, мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п. Этот термин также охватывает любой делеционный или

точечный мутант и вариант TCR α , который сохраняет биологические и функциональные свойства TCR α , такие как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR β , способность собираться с комплексом TCR/CD3 и способность для передачи сигнала Т-клеток (например, активации пути NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. В раскрытии также предлагаются определенные мутации полипептидов TCR α , которые можно использовать при конструировании SIR и Ab-TCR (таблицы 12). Например, сайты мутации в C α , которые демонстрируют повышенную экспрессию и снижение неправильного спаривания, расположены в положениях 91, 92, 93 и 94 в SEQ ID NO 11735. Полипептид TCR с мутацией Thr 48 Cys (T48C) в C α и мутацией Ser-57-Cys (S57C) в цепи C β 1 или C β 2 (более подробно описан в других разделах настоящей заявки) приводит к дополнительной дисульфидной связи между двумя константными цепями TCR (α и β). Это, в свою очередь, приводит к уменьшению неправильного спаривания с эндогенными цепями TCR в иммунной клетке и повышению функциональности. Аналогичным образом, SIR с мутацией Ser 61 Arg (S61R) в C α и мутацией Arg 79 Gly (R79G) в цепи C β 1 или C β 2 (более подробно описанной в других разделах настоящего документа) приводит к уменьшению неправильного спаривания с эндогенными цепями TCR и повышенной функциональности благодаря дизайну «выступ и впадина» для сопряжения. В раскрытии предложены полипептиды C α , имеющие одну или несколько или все мутации в соответствии с таблицей А-8 ниже и таблицей 12, которые можно использовать при конструировании SIR и Ab-TCR.

Таблица А-8. Мутации согласно раскрытию в константной области TCR-альфа человека (Cα)			
Положение (SEQ ID NO: 11735)	Аминокислота в диком типе	Мутация	ТИП
10	Y	C	дисульфидная связь
15	S	C	дисульфидная связь
45	T	C	дисульфидная связь
48	T	C	дисульфидная связь
61	S	R	Выступ-во-впадину
91	R	S	Муринизация
92	E	D	Муринизация
93	S	V	Муринизация
94	S	R	Муринизация

Геном человека кодирует две высоко гомологичные бета-константные цепи TCR; TCR бета1 (TCR β 1 или TCRb1 или c β 1) и TCR бета 2 (TCR β 2 или TCRb2 или c β 2). SAR (например, SIR, Ab-TCR или TFP) согласно настоящему изобретению могут включать любую из этих двух цепей. Точно так же в способах по настоящему изобретению можно

использовать либо цепи TCR бета1, либо цепи TCR бета2 других видов млекопитающих.

Термин «константная цепь Т-клеточного рецептора-бета-1» или «константная область Т-клеточного рецептора-бета-1» (TCR-бета1, или TCR β 1, или TCRb1, или hTCR-бета1, или C β 1) определяется как белок, представленный как SEQ ID NO: 11746 или эквивалентные остатки (т.е. гомолог) из видов, отличных от человека, например мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п. Этот термин также охватывает любой делеционный или точечный мутант и вариант TCR β 1, который сохраняет биологические и функциональные свойства TCR β 1, такие как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR α , способность собираться с комплексом TCR/CD3 и способность для передачи сигнала Т-клеток (например, активации пути NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. В раскрытии также предлагаются определенные мутации полипептидов TCR β 1, которые можно использовать при конструировании SAR (например, SIR и Ab-TCR) (таблица 12). В раскрытии также предлагаются несколько делеционных мутантов TCR β 1, которые можно использовать при конструировании SAR (таблица 12).

Термин «константная цепь Т-клеточного рецептора-бета-2» или «константная область Т-клеточного рецептора-бета-2» (TCR-бета2, или TCR β 2, или TCRb2, или C β 2) определяется как белок, представленный как SEQ ID NO: 11747, или эквивалентные остатки (т.е. гомолог) из видов, отличных от человека, например мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п. Этот термин также охватывает любой делеционный или точечный мутант и вариант TCR β 2, который сохраняет биологические и функциональные свойства TCR β 2, такие как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR α , способность собираться с комплексом TCR/CD3 и способность для передачи сигнала Т-клеток (например, активации пути NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. В раскрытии также предлагаются определенные мутации полипептидов TCR β 2, которые можно использовать при конструировании SAR (например, SIR и Ab-TCR) (таблица 12). В раскрытии также предлагаются несколько делеционных мутантов TCR β 2, которые можно использовать при конструировании SAR (таблица 12).

Белковые последовательности как для C β 1 (SEQ ID NO: 11746), так и для C β 2 (SEQ ID NO: 11747) известны (таблица 6). Различия между последовательностями C β 2 и C β 1 легко идентифицируются путем выравнивания последовательностей с применением типичных и обычных навыков в данной области. В целом цепи C β 1 и C β 2 в высокой степени гомологичны. Следовательно, если не указано иное, термин константная цепь TCR β , TCR-бета или TCRb относится к константной цепи либо TCR β 1, либо TCR β 2.

Точно так же, если не указано иное, термин С β относится либо к С β 1, либо к С β 2. В раскрытии также предлагаются определенные мутации в цепях TCR β , которые можно использовать при конструировании SIR и Ab-TCR. Например, в настоящей заявке представлены участки мутации в С β , которые демонстрируют повышенную экспрессию и уменьшенное неправильное спаривание с эндогенными цепями TCR α . Эти сайты мутаций в С β 1 и С β 2 расположены в положениях 18, 22, 57, 79, 133, 136 и 139 SEQ ID NO: 11746 и 11747 и суммированы в таблицах А-9 и А10 ниже. Сайты мутаций в С β 1 и С β 2 идентичны по своему положению. Единственная разница между двумя последовательностями заключается в том, что мутация в положении 136. В этом положении в С β 2 присутствует глутаминовая кислота (E), тогда как в С β 1 присутствует валин.

Таблица А-9. Мутации согласно раскрытию в константной области 1 TCR-бета человека (Сβ1)			
Положение (SEQ ID NO: 11746)	Аминокислота в диком типе	Мутация	ТИП
15	E	C	дисульфидная связь
17	S	C	дисульфидная связь
18	E	K или R	Муринизация
22	S	A	Муринизация
57	S	C	дисульфидная связь
59	D	C	дисульфидная связь
77	S	C	дисульфидная связь
79	R	G	Выступ-в-углубление
133	F	I	Муринизация
136	V	A	Муринизация
139	Q	H	Муринизация
Таблица А-10. Мутации согласно раскрытию в константной области 2 TCR-бета человека (Сβ2)			
Положение (SEQ ID NO: 11747)	Аминокислота в диком типе	Мутация	ТИП
15	E	C	дисульфидная связь
17	S	C	дисульфидная связь
18	E	K или R	Муринизация
22	S	A	Муринизация
57	S	C	дисульфидная связь
59	D	C	дисульфидная связь
77	S	C	дисульфидная связь
79	R	G	Выступ-в-углубление
133	F	I	Муринизация
136	E	A	Муринизация
139	Q	H	Муринизация

Термин «константная цепь TCR-гамма» или «константная область TCR-гамма» (TCR-гамма, или TCR γ , или TCRg, или TCR-gamma1, или TCR γ 1, или TCRg1, или C γ) определяется как белок, представленный как SEQ ID NO: 11771 или эквивалентные остатки (т.е. гомолог) из видов, отличных от человека, например мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п. Этот термин также охватывает любой делеционный или точечный мутант и вариант TCR γ , который сохраняет биологические и функциональные свойства TCR γ , такие как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR (например, TCR δ), способность собираться с комплексом TCR/CD3 и способность передавать сигнал Т-клеток (например, активировать путь NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. В раскрытии также предлагаются определенные мутации полипептидов TCR γ , которые можно использовать при конструировании SAR (например, SIR и Ab-TCR) (таблица 12). В раскрытии также предлагаются несколько делеционных мутантов TCR β , которые можно использовать при конструировании SAR (таблица 12).

Термин «константная цепь TCR-дельта» или «константная область TCR-дельта» (TCR-дельта или TCR δ , или TCRd, или C δ) определяется как белки, представленные как SEQ ID NO: 5982, или эквивалентные остатки (т.е. гомолог) из вида, отличного от человека, например, мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п. Этот термин также охватывает любой делеционный или точечный мутант и вариант TCR δ , который сохраняет биологические и функциональные свойства TCR δ , такие как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR (например, TCR γ), способность собираться с комплексом TCR/CD3 и способность передавать сигнал Т-клеток (например, активировать путь NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. В раскрытии также предлагаются определенные мутации полипептидов TCR δ , которые можно использовать при конструировании SAR (например, SIR и Ab-TCR) (таблица 12). В раскрытии также предлагаются несколько делеционных мутантов TCR β , которые можно использовать при конструировании SAR (таблица 12).

Термин «константная цепь pretc.R- α » или «константная область pretc.R» (pretc.R α или pretc.R- α или preC α) определяется как белок, представленный в виде SEQ ID NO: 11769, или эквивалентные остатки (т.е. гомолог) из видов, отличных от человека, например мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п. Этот термин также охватывает любой делеционный или точечный мутант и вариант pretc.R α , который сохраняет биологические и функциональные свойства pretc.R α , такие как способность образовывать пары с комплементарной цепью TCR (например, TCR β), способность

собирается с комплексом TCR/CD3 и способностью передавать сигнал Т-клеток (например, активировать путь NFAT) при взаимодействии с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. В раскрытии также предлагаются определенные мутации полипептидов pretc.Rα, которые можно использовать при конструировании SAR (например, SIR и Ab-TCR) (таблица 12). В раскрытии также предлагаются несколько делеционных мутантов pretc.Rα, которые можно использовать при конструировании SAR (таблица 12).

Будет признано, что белки могут иметь идентичность или гомологию друг с другом и сохранять сходные или идентичные функции. Раскрытие включает константные области TCR, которые на 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 98,5%, 99% или 99,9% идентичны любой из последовательностей, описанных в настоящей заявке, при сохранении биологической активности.

Соответственно, в раскрытии предлагаются SAR (например, SIR, cTCR, zSIR, Ab-TCR, TFP и т.п.), имеющие константную цепь Т-клеточного рецептора, имеющую последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (а) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 70% идентична любой из SEQ ID NO: 11733-11742, 11744, 11745, 11793-11803 и необязательно может иметь одну или несколько мутаций в положениях 61, 91, 92, 93, 94, 120, 127 и /или 129; (b) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 75% идентична любой из SEQ ID NO:11746-11766, 11804-11817 и которая необязательно может иметь одну или несколько мутаций в положениях 18, 22, 57, 79, 133, 136 и/или 139; с) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 70% идентична любой из SEQ ID NO:11818-11823; (d) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 70% идентична любой из SEQ ID NO:11824-11830; и (е) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 70% идентична любой из SEQ ID NO:11769-11770; при этом константные цепи Т-клеточного рецептора любого из (а)-(d) сохраняют по меньшей мере одну биологическую активность константной цепи Т-клеточного рецептора дикого типа, с которой они имеют идентичность или гомологию.

В одном воплощении в описании предлагается модифицированный TCR, выбранный из группы, состоящей из TCR дикого типа, высокоаффинного TCR и химерного TCR. В другом воплощении модифицированный TCR содержит по меньшей мере одну дополнительную дисульфидную связь. В еще одном воплощении модифицированный TCR содержит альфа-цепь TCR и бета-цепь TCR.

Термин «конститутивно активный» относится к молекуле, например белку, который обладает сигнальной активностью без необходимости стимулирования. Примерами конститутивных активных белков являются NEMO-K277A и vFLIP K13,

поскольку они могут активировать передачу сигналов NF-κB при экспрессии в подходящей клетке без необходимости дополнительного стимулирования.

Термин «костимулирующая молекула» или «костимулирующий рецептор» относится к родственному партнеру по связыванию на T-клетке, который специфически связывается с костимулирующим лигандом, тем самым опосредуя костимулирующий ответ T-клетки, такой как, без ограничения указанным, пролиферация. Костимулирующие внеклеточные молекулы представляют собой молекулы клеточной поверхности, отличные от антигенных рецепторов или их лигандов, которые способствуют эффективному иммунному ответу. Костимулирующие молекулы включают, без ограничения указанным, молекулу MHC класса I, BTLA и рецептор лиганда Toll, а также OX40, CD28, 2B4 и 4-1BB (CD137). Костимулирующий рецептор может быть экспрессирован на клетках других T-клеток, таких как NK-клетки или макрофаги.

«Костимулирующий внутриклеточный сигнальный домен» или «костимулирующий домен» (КСД) может представлять собой внутриклеточную часть костимулирующего рецептора. Костимулирующая молекула может быть представлена в следующих семействах белков: белки рецептора TNF, иммуноглобулиноподобные белки, рецепторы цитокинов, интегрины, сигнальные молекулы активации лимфоцитов (белки SLAM) и активирующие рецепторы NK-клеток. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, 2B4, CD40, ICOS и т.п. Внутриклеточный сигнальный домен может включать всю внутриклеточную часть или весь нативный внутриклеточный сигнальный домен молекулы, из которой этот домен получен, или его функциональный фрагмент или производное. SAR раскрытия могут содержать один или несколько костимулирующих доменов.

Термин «сTCR» относится к последовательности, кодирующей нуклеиновую кислоту TCR дикого типа, и соответствующему белку TCR дикого типа, связанному с антигенсвязывающим доменом, который не является производным из TCR. Цепи TCR из сTCR не оптимизированы по кодонам и не содержат мутаций, которые могут усилить их экспрессию или уменьшить спаривание с эндогенными цепями TCR. В примерном воплощении антигенсвязывающий домен сTCR может состоять из фрагментов vL, vH или scFv. сTCR были описаны в (Gross, Waks & Eshhar, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989). сTCR используются в некоторых воплощениях и в качестве референсных контролей. Например, сTCR, имеющий связывающий домен CD19 и CD19-SIR (содержащий мутантную цепь TCR или оптимизированную по кодонам цепь TCR и CD19-связывающий домен), будет иметь разную экспрессию и/или разную аффинность связывания с антигеном-мишенью. В этом раскрытии предлагаются биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR

с каркасом сTCR, содержащие один или несколько AABD. Домены AABD из SAR раскрытия с основной цепью из сTCR могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном воплощении в раскрытии предлагается сTCR, содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vH. В другом воплощении в раскрытии предлагается сTCR, содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vL.

Термин «цитозольный» или «цитоплазматический» относится к агенту, например белку, который находится в цитоплазме клетки в его зрелой форме. Цитозольный белок может транслоцироваться в ядро, но не является трансмембранным белком и не секретируется за пределы клетки. Типичными цитозольными белками являются MC159 и K13.

Синдром высвобождения цитокинов (СВЦ) представляет собой осложнение клеточной терапии (например, SAR-T, антитела, взаимодействующие с биспецифичными T-клетками и т.п.), которое проявляется совокупностью признаков и симптомов, таких как лихорадка, гипотензия, одышка, почечная дисфункция, легочная дисфункция и/или синдром капиллярной утечки.

Дарпин или DARPins (сконструированные белки с анкириновыми повторами) представляют собой генетически сконструированные белки-миметики антител, обычно демонстрирующие высокоспецифичное и высокоаффинное связывание с белком-мишенью. Примерные дарпины представлены в таблице 7.

Термин «дегенеративные расстройства» относится к заболеванию, которое является результатом непрерывного процесса, основанного на дегенеративных клеточных изменениях, поражающих ткани или органы, которые со временем будут все больше ухудшаться, будь то из-за нормального физического износа или образа жизни, такого как физические упражнения или пищевые привычки. Примеры дегенеративных заболеваний включают болезнь Альцгеймера, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, сахарный диабет (тип II) и атеросклероз.

Используемый в данном документе термин «полученный из» указывает на взаимосвязь между первой и второй молекулой. Обычно это относится к структурному сходству между первой молекулой и второй молекулой и не подразумевает и не включает ограничение способа или источника для первой молекулы, которая получена из второй молекулы. Например, в случае антигенсвязывающего домена, полученного из молекулы антитела, антигенсвязывающий домен сохраняет достаточную структуру антитела, так что он выполняет требуемую функцию, а именно способность связываться с антигеном. Это не подразумевает и не включает ограничение конкретного способа получения антитела,

например, это не означает, что для обеспечения антигенсвязывающего домена нужно начинать с последовательности антитела и удалять нежелательную последовательность или вводить мутации, чтобы получить в антигенсвязывающем домене.

«Молекула димеризации», как этот термин используется в данном документе, относится к молекуле, которая способствует ассоциации первого домена переключения со вторым доменом переключения.

Фраза «заболевание, связанное с экспрессией антигена-мишени» или «антиген, ассоциированный с заболеванием, как описано в настоящей заявке», включает, без ограничения указанным, заболевание, связанное с экспрессией антигена-мишени, как описано в настоящей заявке, или состояние, связанное с клетками, экспрессирующими антиген-мишень. антиген, как описано в настоящей заявке, включая, например, пролиферативные заболевания, такие как рак или злокачественное новообразование, или предопухоловое состояние, такое как миелодисплазия, миелодиспластический синдром или миелопролиферативное расстройство или предлейкоз; или не связанное с раком состояние, ассоциированное с клетками, которые экспрессируют антиген-мишень, как описано в настоящей заявке. В одном аспекте рак, связанный с экспрессией опухолевого антигена, как описано в настоящей заявке, представляет собой гемобластоз. В одном аспекте рак, связанный с экспрессией ракового антигена, как описано в настоящей заявке, представляет собой солидный рак. Другие заболевания, связанные с экспрессией опухолевого антигена, описанные в настоящей заявке, включают, без ограничения указанным, атипичные и/или неклассические виды рака, злокачественные новообразования, предопухоловые состояния или пролиферативные заболевания, связанные с экспрессией опухолевого антигена, как описано в настоящей заявке. Не связанные с раком состояния, связанные с экспрессией антигена-мишени, как описано в настоящей заявке, включают, без ограничения указанным, например, аутоиммунное заболевание (например, волчанку), воспалительные заболевания (аллергия и астма) и трансплантацию. В некоторых воплощениях клетки, экспрессирующие антиген-мишень, экспрессируют или экспрессируют в любое время мРНК, кодирующую антиген-мишень. В другом воплощении клетки, экспрессирующие антиген-мишень, продуцируют белок-мишень-антиген (например, дикого типа или мутантный), и белок-мишень-антиген может присутствовать в нормальных или сниженных количествах. В другом воплощении клетки, экспрессирующие антиген-мишень, продуцировали обнаруживаемые уровни белка антигена-мишени в какой-то момент и впоследствии практически не продуцировали белок антигена-мишени.

«Заболевание, на которое нацелены генетически модифицированные клетки», как

используется в настоящей заявке, включает нацеливание на любую клетку, вовлеченную каким-либо образом в любое заболевание, с помощью генетически модифицированных клеток по настоящему изобретению, независимо от того, нацелены ли генетически модифицированные клетки на больные клетки или на здоровые клетки для осуществления терапевтически полезного результата. Генетически модифицированные клетки включают, без ограничения указанным, генетически модифицированные Т-клетки, НК-клетки, гемопоэтические стволовые клетки, плюрипотентные эмбриональные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) или эмбриональные стволовые клетки. Генетически модифицированные клетки экспрессируют обычные SAR и новые каркасы, содержащие обычные SAR с дополнительными модулями по настоящему изобретению, причем SAR могут быть нацелены на любой из антигенов, экспрессируемых на поверхности клеток-мишеней. Примеры антигенов, которые могут быть нацелены, включают, без ограничения указанным, антигены, экспрессируемые на В-клетках; антигены, экспрессируемые на карциномах, саркомах, лимфомах, лейкозах, герминогенных опухолях и бластомах; антигены, экспрессируемые на различных иммунных клетках; и антигены, экспрессируемые на клетках, связанных с различными гематологическими заболеваниями, аутоиммунными заболеваниями и/или воспалительными заболеваниями. Специалистам в данной области техники будут очевидны другие антигены, на которые можно нацеливаться, и на них могут нацеливаться SAR раскрытия в связи с его альтернативными воплощениями.

Термин «константа диссоциации (Kd)» определяется как константа равновесия диссоциации взаимодействия рецептор-лиганд (например, связывающий домен – когнатный белок).

Используемый в данном документе термин «разнообразный набор неприродных иммунных рецепторов» или «разнообразный набор SAR» или «разнообразный набор SAR» относится к множеству неприродных иммунных рецепторов, имеющих одинаковые или разные связывающие домены, связанные с разнообразным набором сигнальных цепей или «каркасов», где каждая конструкция, содержащая связывающий домен и другую сигнальную цепь или «каркас», обеспечивает различный диапазон связывания с антигеном-мишенью и/или разные уровни экспрессии. Например, в зависимости от мутационной композиции константного домена (например, мутантный TCR α +TCR β) аффинность связывания связывающего домена с его мишенью варьирует. В некоторых воплощениях биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR с каркасом SIR, Ab-TCR или TFP согласно настоящему изобретению имеет аффинность связывания, которая ниже, чем у SAR 2-го поколения, но выше, чем у TCR дикого типа (например, cTCR) с одним и

тем(и) же доменом(ами) связывания.

Используемый в данном документе термин «эпитоп» определяется как часть антигена, способная вызывать иммунный ответ, или часть антигена, которая связывается с антителом или фрагментом антитела. Эпитопы могут представлять собой белковую последовательность или субпоследовательность.

Термин «экспрессирующий вектор» относится к вектору, содержащему рекомбинантный полинуклеотид, содержащий последовательности контроля экспрессии, функционально связанные с нуклеотидной последовательностью, которая должна быть экспрессирована. Экспрессирующие векторы включают все известные в данной области техники, включая космиды, плазмиды (например, «голые» или содержащиеся в липосомах) и вирусы (например, лентивирусы, ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые включают рекомбинантный полинуклеотид.

Используемые в данной области термины «Fc-рецептор» и «FcR» описывают рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. В некоторых воплощениях FcR представляет собой человеческий FcR с нативной последовательностью.

Термин «функциональная часть» при использовании в отношении SAR относится к любой части или фрагменту SAR, причем часть или фрагмент сохраняет биологическую активность SAR, частью которого он является (исходный SAR). Функциональные части охватывают, например, те части SAR, которые сохраняют способность распознавать клетки-мишени или обнаруживать, лечить или предотвращать заболевание в такой же степени, в той же степени или в большей степени, что и исходный SAR. Что касается исходного SAR, то функциональная часть может составлять, например, около 10%, 25%, 30%, 50%, 68%, 80%, 90%, 95% или более от исходного SAR.

«Генетически модифицированные клетки», «перенаправленные клетки», «генно-инженерные клетки» или «модифицированные клетки», используемые в настоящей заявке, относятся к клеткам, которые экспрессируют SAR раскрытия. В некоторых воплощениях генетически модифицированные клетки содержат векторы, кодирующие SAR. В некоторых воплощениях генетически модифицированные клетки содержат векторы, которые кодируют SAR и одну или несколько вспомогательных молекул (например, PDL1, PDL2, *ctmA*, MC159 и т.п.).

«Шарнирная область» (HR) в данном контексте относится к гидрофильной области, которая находится между антигенсвязывающим доменом и трансмембранным доменом SAR. Шарнирные области включают, без ограничения указанным, Fc-фрагменты антител или их фрагменты, или производные, шарнирные области антител или их фрагменты, или производные, CH2-области антител, CH3-области антител, искусственные

спейсерные последовательности или их комбинации. Примеры шарнирных областей включают, без ограничения указанным, шарнир CD8a и искусственные спейсеры, изготовленные из полипептидов, которые могут быть такими же маленькими, как, например, домены Gly3 или CH1 и CH3 IgG (такие как IgG4 человека). Примеры HR представлены в таблице 17 (SEQ ID NO: 1198-1204).

«Иммунная клетка» в данном контексте относится к клеткам иммунной системы млекопитающих, включая, без ограничения указанным, антигенпрезентирующие клетки, В-клетки, базофилы, цитотоксические Т-клетки, дендритные клетки, эозинофилы, гранулоциты, хелперные Т-клетки, лейкоциты, лимфоциты, макрофаги, тучные клетки, клетки памяти, моноциты, естественные клетки-киллеры, нейтрофилы, фагоциты, плазматические клетки и Т-клетки.

Термин «иммунное расстройство» относится к заболеванию, характеризующемуся дисфункцией иммунной системы. Аутоиммунное заболевание — это состояние, возникающее в результате аномального иммунного ответа на нормальную часть тела. Существует не менее 80 видов аутоиммунных заболеваний.

«Иммунная эффекторная клетка», как этот термин используется в данном документе, относится к клетке, которая участвует в иммунном ответе, например, в промотировании иммунного эффекторного ответа. Примеры иммунных эффекторных клеток включают Т-клетки, например, альфа/бета Т-клетки и гамма/дельта Т-клетки, В-клетки, клетки-естественные киллеры (NK), Т-клетки-естественные киллеры (NKT), тучные клетки и фагоциты миелоидного происхождения.

«Иммунная эффекторная функция» или «иммунный эффекторный ответ», «эффекторная функция» относится к специализированной функции дифференцированной клетки. Эффекторная функция Т-клетки, например, может представлять собой цитолитическую активность или хелперную активность, включая секрецию цитокинов. Например, иммунная эффекторная функция или ответ относится к свойству Т- или НК-клетки, которое способствует уничтожению или ингибированию роста или пролиферации клетки-мишени. В случае Т-клетки первичная стимуляция и костимуляция являются примерами иммунной эффекторной функции или ответа. В случае антигенпрезентирующих клеток (например, дендритных клеток) презентация антигена и секреция цитокинов являются примерами эффекторных функций.

«Иммунный ответ», используемый в данном документе, относится к иммунитетам, включая врожденный иммунитет, гуморальный иммунитет, клеточный иммунитет, иммунитет, воспалительный ответ, приобретенный (адаптивный) иммунитет, аутоиммунитет и/или сверхактивный иммунитет, без ограничения указанным.

Термин «внутриклеточный сигнальный домен» (ВСД), или «цитоплазматический домен», или «первичный внутриклеточный сигнальный домен», или «активационный домен», используемый в настоящей заявке, относится к внутриклеточной сигнальной части молекулы. Внутриклеточный сигнальный домен генерирует сигнал, который способствует иммунной эффекторной функции клетки. Примеры иммунной эффекторной функции включают цитолитическую активность и хелперную активность, включая секрецию цитокинов. Первичный внутриклеточный сигнальный домен может содержать сигнальный мотив, известный как мотив активации иммунорецептора на основе тирозина или ITAM. Примеры ITAM, содержащие первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, включают, без ограничения указанным, последовательности, происходящие от CD3 дзета, общего FcR гамма (FCER1G), Fc гамма RIIa, FcR бета (Fc эpsilon R1b), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эpsilon, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12.

Используемый в данном документе термин «выделенный» относится к молекулам, биологическим или клеточным материалам, практически не содержащим других материалов. В одном аспекте термин «выделенный» относится к нуклеиновой кислоте, такой как ДНК или РНК, или белку, или полипептиду (например, антителу или его производному), или клетке, или клеточной органелле, или ткани, или органу, отделенным от других ДНК или РНК, или белков, или полипептидов, или клеток, или клеточных органелл, или тканей, или органов, соответственно, которые присутствуют в природном источнике. Термин «выделенный» также относится к нуклеиновой кислоте или пептиду, которые по существу не содержат клеточного материала, вирусного материала или культуральной среды при получении методами рекомбинантной ДНК или химических предшественников, или других химических веществ при химическом синтезе. Более того, «выделенная нуклеиновая кислота» предназначена для включения фрагментов нуклеиновой кислоты, которые не встречаются в природе в виде фрагментов и не могут быть обнаружены в естественном состоянии. Термин «выделенный» также используется в данном документе для обозначения полипептидов, которые выделены из других клеточных белков, и подразумевается, что он охватывает как очищенные, так и рекомбинантные полипептиды. Термин «выделенные» также используется в данном документе для обозначения клеток или тканей, которые выделены из других клеток или тканей, и предназначен для охвата как культивируемых, так и сконструированных клеток или тканей.

Используемый в данном документе термин «линкер» (также «линкерный домен» или «линкерная область») относится к олиго или полипептиду (или олиго, кодирующему полипептид), который соединяет два или более доменов или областей полинуклеотида

SAR или полипептида, соответственно, раскрытого в настоящей заявке. Линкер может иметь длину от 1 до 500 аминокислот или от 3 до 1500 нуклеотидов. В одном воплощении линкер представляет собой 1 или более аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 450, 500 аминокислот и любое промежуточное число) в длину. В одном воплощении линкер находится в диапазоне от 1 до 100, от 1 до 125, от 1 до 150, от 1 до 200, от 1 до 250, от 1 до 300, от 1 до 350, от 1 до 400, от 1 до 450, длиной от 3 до 500 аминокислот. В одном воплощении SAR раскрытия могут содержать один или более одного линкера (например, 2, 3, 4 или более).

«Длинный линкер» или «длинный линкерный домен» представляет собой линкер длиной от 25 до 500 аминокислот. В одном воплощении длинный линкер имеет около 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 450, 500 аминокислот в длину и любое количество в этом интервале. В одном воплощении длинный линкер имеет длину от 25 до 125 аминокислот. В одном воплощении длинный линкер имеет длину от 50 до 150 аминокислот. В одном воплощении длинный линкер имеет длину от 75 до 175 аминокислот. В одном воплощении длинная связь имеет длину от 100 до 200 аминокислот. В одном воплощении длинный линкер имеет длину от 120 до 220 аминокислот. В одном воплощении длинный линкер имеет длину от 100 до 300 аминокислот.

В одном воплощении линкер кодирует или содержит домен иммуноглобулина (Ig) или Ig-подобный домен или его фрагмент. Термины «Ig-домен», «Ig-линкерный домен», «Ig-подобные домены» или «Ig-подобные линкерные домены» используются в данном раскрытии взаимозаменяемо. Иммуноглобулиновый домен представляет собой тип белкового домена, который состоит из двухслойного сэндвича из 7-9 антипараллельных β -цепей, расположенных в двух β -листах с топологией греческого ключа, состоящих примерно из 125 аминокислот. Домены Ig можно классифицировать как IgV, IgC1, IgC2 или IgI. Домены IgV с 9 бета-цепями обычно больше, чем домены IgC с 7 бета-цепями. В одном воплощении линкер содержит домен IgV или его фрагмент. В одном воплощении линкер содержит домен IgC или его фрагмент. Ig-домены обнаружены в иммуноглобулинах, цепях Т-клеточных рецепторов, МНС класса I, МНС класса II, микроглобулине $\beta 2$, корецепторах (например, CD4, CD8, CD19 и т.п.), вспомогательных молекулах антигенных рецепторов (например, CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ , CD79a, CD79b), костимулирующих или ингибирующих молекулах (например, CD28, CD80, CD86),

рецепторах NK-клеток (например, KIR), лейкоцитарном иммуноглобулинподобном рецепторе (LILR), IgSF CAM (например, NCAM, ICAM, CD2 и т.п.), рецепторах цитокинов (например, IL-1R, CSF-1R и т.п.), рецепторах факторов роста (например, PDGFR), рецепторах тирозинкиназ и фосфатаз, Ig-связывающих рецепторах, белках цитоскелета (например, титина, палладина и т.п.) и других белках (например, CD147, CD90 и т.п.). Примерами Ig-линкерных доменов являются IgCL (SEQ ID NO: 1142) и IgG1-CH1 (SEQ ID NO: 1143). Дополнительные примерные линкеры Ig представлены в таблице 13 (SEQ ID NO (PRT): 11832-11865). В одном воплощении линкер обладает доменом E set. Домен E set представляет собой семейство «ранних» Ig-подобных складок, возможно, связанных с суперсемействами иммуноглобулинов и/или фибронектина типа III. В одном воплощении линкер содержит домен фибронектина типа III.

Линкер может быть гибким линкером. Термин «гибкий полипептидный линкер», используемый в данном документе, относится к пептидному линкеру, который состоит из аминокислот, таких как остатки глицина и/или серина, или состоит в основном из них, используемых по отдельности или в комбинации, для связывания полипептидных цепей вместе (например, переменных областей тяжелой и легкой цепей). В одном воплощении гибкий полипептидный линкер представляет собой линкер Gly/Ser и содержит аминокислотную последовательность (Gly-Gly-Gly-Ser) n (например, SEQ ID NO:11715), где n представляет собой положительное целое число, равное или большее чем 1. Например, $n=1$, $n=2$, $n=3$, $n=4$, $n=5$ and $n=6$, $n=7$, $n=8$, $n=9$ и $n=10$. В одном воплощении гибкие полипептидные линкеры включают, без ограничения указанным, (Gly₄Ser)₄ или (Gly₄Ser)₃.

В некоторых воплощениях «линкер» является расщепляемым или нерасщепляемым. Если не указано иное, используемый в данном документе термин «линкер» означает нерасщепляемый линкер. Указанные нерасщепляемые линкеры могут состоять из гибких остатков, которые обеспечивают свободу движения соседних белковых доменов относительно друг друга. Неограничивающие примеры таких остатков включают глицин и серин. В некоторых воплощениях линкеры включают негибкие остатки. Примеры расщепляемых линкеров включают 2A-линкеры (например, T2A), 2A-подобные линкеры или их функциональные эквиваленты и их комбинации. В некоторых воплощениях линкеры включают пикорнавирусный 2A-подобный линкер, последовательности CHYSEL свиного тешовируса (P2A), вируса *Thosea asigna* (T2A) или их комбинации, варианты и функциональные эквиваленты. В некоторых воплощениях линкерные последовательности могут содержать мотив, который приводит к расщеплению между глицином 2A и пролином 2B (см., например, последовательность

T2A). Нуклеиновые последовательности нескольких типичных расщепляемых линкеров представлены SEQ ID NO: 1233-SEQ ID NO: 1238, а аминокислотные последовательности нескольких типичных линкеров представлены SEQ ID NO: 11923-SEQ ID NO: 11928. Другие расщепляемые линкеры, которые могут быть использованы в данном документе, легко оценят специалисты в данной области.

В одном воплощении мотив Ser-Gly-Ser-Gly (SGSG) (SEQ ID NO: 11929) также добавляется выше расщепляемых линкерных последовательностей для повышения эффективности расщепления. Потенциальным недостатком расщепляемых линкеров является возможность того, что небольшая метка 2A, оставленная на конце N-концевого белка, может влиять на функцию белка или способствовать антигенности белков. Чтобы преодолеть это ограничение, в некоторых воплощениях перед мотивами SGSG добавляют сайт расщепления фурином (RAKR) (SEQ ID NO: 11931), чтобы облегчить расщепление остаточного пептида 2A после трансляции.

Линкер может представлять собой расщепляемый протеазой линкер. Примеры расщепляемых протеазой линкеров представлены в таблице 19.

Термин «лентивирус» относится к роду семейства Retroviridae. Лентивирусы уникальны среди ретровирусов по способности инфицировать неделящиеся клетки; они могут доставлять значительное количество генетической информации в ДНК клетки-хозяина, поэтому они являются одним из наиболее эффективных способов для вектора доставки генов. HIV, SIV и FIV - все являются примерами лентивирусов.

Термин «лентивирусный вектор» относится к вектору, полученному по меньшей мере из части генома лентивируса, в частности, к самоинактивирующемуся лентивирусному вектору, предложенному Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009). Другие примеры лентивирусных векторов, которые могут использоваться в клинике, включают, без ограничения указанным, например, технологию доставки генов LENTIVECTOR® от Oxford BioMedica, векторную систему LENTIMAX™ от Lentigen и т.п. Неклинические типы лентивирусных векторов также доступны и будут известны специалисту в данной области. Другими примерами лентивирусных векторов являются pLENTI-EF1 α (SEQ ID NO: 1), pLENTI-EF1 α -DWPRE (SEQ ID NO: 2), pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 4) и pCCLc-MNDU3-Eco-Nhe. -Sal-WPRE (SEQ ID NO: 5). В примерном воплощении фрагмент нуклеиновой кислоты, кодирующий SAR или SAR плюс дополнительный(ые) модуль (модули), или дополнительный(ые) модуль (модули) может быть клонирован между сайтами Nhe I и Sal I, присутствующими в векторах pLENTI-EF1 α и pCCLc-MNDU3-Eco-Nhe-Sal-WPRE с применением способов, известных в данной области.

Термин «млекопитающее», используемый в данном документе, относится к любому представителю класса млекопитающих, включая, без ограничения указанным, человека и нечеловеческих приматов, таких как шимпанзе и другие человекообразные обезьяны и виды обезьян; сельскохозяйственных животных, такие как крупный рогатый скот, овцы, свиньи, козы и лошади; домашних млекопитающих, такие как собаки и кошки; лабораторных животных, включая грызунов, таких как мыши, крысы и морские свинки, и т.п.

«Нативный» или «встречающийся в природе» или «эндогенный» в данном контексте относится к гену, белку, нуклеиновой кислоте (например, ДНК, РНК и т.п.) или их фрагменту, который является нативным для клетки или естественным образом экспрессируется в клетке. Таким образом, нативный или эндогенный полипептид цепи TCR α T-клетки состоит из вариабельного домена (V α), присоединенного к константной цепи TCR α . Нативный или эндогенный полипептид-предшественник цепи TCR α также состоит из аминоконцевого сигнального пептида, который отщепляется от зрелого полипептида.

Термин «агонист NIK», используемый в данном документе, относится к агенту, который активирует активность киназы, индуцирующей NF- κ B. В одном воплощении агонист NIK представляет собой миметик SMAC.

Используемый в данном документе термин «миметик SMAC» относится к агенту, который имитирует активность белка SMAC/DIABLO.

Термин «рядом с N-концом», используемый в данном документе, означает в пределах N-концевых 30 аминокислот. Например, термин «AABD, функционально связанный с N-концом или вблизи N-конца домена vL и/или vH», означает AABD, который функционально связан с N-концом фрагмента vL или vH или функционально связан с N-концевыми 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25 или 30 аминокислотами, которые содержатся в домене vL или vH. Аналогичным образом, термин «AABD, функционально связанный с N-концом или вблизи N-конца домена Va и/или Vb», означает AABD, который функционально связан с N-концом фрагмента Va или Vb, или функционально связан с N-концевыми 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25 или 30 аминокислотами, которые содержатся в домене Va или Vb. AABD по настоящему изобретению может быть функционально связан с N-концом другого домена или рядом с ним либо непосредственно, либо через промежуточную линкерную последовательность.

Используемый в данном документе термин «не встречающийся в природе агент», или «ненативный», или «экзогенный» относится к агенту, который не экспрессируется

естественным образом в клетке. Другими словами, неприродный агент «сконструирован» для экспрессии в клетке. Не встречающийся в природе агент может быть клонированной версией природного агента. Примеры неприродных агентов включают SAR (например, CAR, SIR, Ab-TCR, TFP, рекомбинантный TCR, NEMO-K277A, vFLIP-K13 и K13-opt). Не встречающийся в природе агент может быть экспрессирован в клетке с применением методов переноса генов, известных в данной области, таких как перенос генов, опосредованный лентивирусами или ретровирусами. Не встречающийся в природе агент может быть экспрессирован в иммунной клетке с применением экзогенного промотора (например, промотора EF1 α) или эндогенного промотора (например, промотора TCR α).

Используемый в данном документе термин «не встречающийся в природе иммунный рецептор» или «экзогенный иммунный рецептор» относится к иммунному рецептору, который в природе не экспрессируется в иммунной клетке. Другими словами, не встречающийся в природе иммунный рецептор «сконструирован» для экспрессии в иммунной клетке. Не встречающийся в природе иммунный рецептор может быть клонированной версией встречающегося в природе иммунного рецептора. Альтернативно, не встречающийся в природе иммунный рецептор может быть химерным рецептором, полученным с применением методов рекомбинантной молекулярной биологии. Примеры неприродных иммунных рецепторов включают SAR, SIR, Ab-TCR, TFP и рекомбинантные TCR. Не встречающийся в природе иммунный рецептор может быть введен в иммунную клетку с применением методов переноса генов, известных в данной области, таких как перенос генов, опосредованный лентивирусами или ретровирусами. Не встречающийся в природе иммунный рецептор может быть экспрессирован в иммунной клетке с применением экзогенного промотора (например, промотора EF1 α) или эндогенного промотора (например, промотора TCR α).

Используемый в данном документе термин «не-scFv антигенсвязывающий домен» или «антигенсвязывающий домен, не основанный на scFv» относится к антигенсвязывающему домену, который не состоит из одноцепочечного переменного фрагмента (т.е. vL-линкер-vH или vH-линкер-vL). Примеры антигенсвязывающих доменов, не основанных на scFv, включают, без ограничения указанным, vHH, FHvH, SVL, неиммуноглобулиновые антигенсвязывающие каркасы (например, дарпин, центирин, аффибоди и т.п.), лигандсвязывающий домен рецептора, рецепторсвязывающий домен лиганда, домены связывания адаптера (например, домены RZIP, EZIP, E4, K4, D, NKG2D-YA, NKG2D-AF, CD16A-V158, CD32 или CD64 и т.п.) и аутоантигены. AABD представляют собой антигенсвязывающие домены, не основанные на scFv.

Используемый в данном документе термин «не встречающийся в природе

антигенсвязывающий домен TCR» или «экзогенный антигенсвязывающий домен TCR» относится к связывающему домену, функционально связанному с константной областью TCR, который является химерным и не встречающимся в природе по отношению к TCR, присутствующему в природе. Другими словами, не встречающийся в природе антигенсвязывающий домен TCR «сконструирован» с применением методов рекомбинантной молекулярной биологии, чтобы быть функционально связанным с TCR, и, кроме того, антигенсвязывающий домен взят или получен из молекулы, которая отличается от TCR, который встречается в природе. Антигенсвязывающий домен, который по своей природе отличается от TCR, включает фрагменты антител vH и vL , гуманизированные фрагменты антител, химерные фрагменты антител, лиганды рецепторов и т.п.

Используемый в данном документе термин «NKT-клетки» относится к подмножеству Т-клеток, которые коэкспрессируют $\alpha\beta$ Т-клеточный рецептор, но также экспрессируют различные молекулярные маркеры, которые обычно связаны с НК-клетками, такие как NK1.1. Наиболее известные NKT-клетки отличаются от обычных $\alpha\beta$ -Т-клеток тем, что их Т-клеточные рецепторы гораздо более ограничены в разнообразии («инвариантные» или «тип 1» NKT). Они и другие CD1d-рестриктированные Т-клетки («тип 2» NKT) распознают липиды и гликолипиды, представленные молекулами CD1d, членами семейства антигенпрезентирующих молекул CD1, а не главными пептидными комплексами гистосовместимости (MHC).

Термин «оперативно связанный» или «функционально связанный», или «функционально соединенный», или «функционально присоединенный» относится к функциональной связи или ассоциации между первым компонентом и вторым компонентом, так что каждый компонент может быть функциональным. Например, функционально связанный включает ассоциацию между регуляторной последовательностью и последовательностью гетерологичной нуклеиновой кислоты, приводящую к экспрессии последней. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты находится в функциональной связи со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. В контексте двух разных модулей молекулы первый модуль функционально связан со вторым модулем, когда их нуклеотидные последовательности соединены в рамке считывания. В контексте двух полипептидов, которые функционально связаны, первый полипептид функционирует таким образом, что он не зависит от какой-либо связи, а второй полипептид функционирует так, как если бы между ними отсутствовала связь. Термины

«функционально связанный» или «функционально присоединенный» используются взаимозаменяемо с терминами «связанный», «присоединенный» или «соединенный».

«Процентная идентичность» в контексте двух или более последовательностей нуклеиновых кислот или полипептидов относится к двум или более последовательностям, которые являются одинаковыми. Две последовательности являются «по существу идентичными», если две последовательности имеют определенный процент одинаковых аминокислотных остатков или нуклеотидов (например, идентичность 60%, необязательно 70%, 71%), 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичности по указанной области или, если не указано, по всей последовательности) при сравнении и выровнены для максимального соответствия в окне сравнения или обозначенной области, измеренной с применением одного из следующих алгоритмов сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуального осмотра. Необязательно, идентичность существует в области, которая составляет по меньшей мере около 50 нуклеотидов (или 10 аминокислот) в длину, или, что более типично, в области, которая составляет от 100 до 500 или 1000 или более нуклеотидов (или 20, 50, 200 или более аминокислот) в длину.

Для сравнения последовательностей обычно одна последовательность выступает в качестве референсной последовательности, с которой сравниваются тестовые последовательности. Двумя примерами алгоритмов, которые можно использовать для определения процента идентичности последовательностей и подобия последовательностей, являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в Altschul et al., (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402; и Altschul et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410, соответственно. Програмное обеспечение для осуществления анализов BLAST общедоступно через Национальный центр биотехнологической информации (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Термин «ретровирусный вектор» относится к вектору, полученному по меньшей мере из части генома ретровируса. Примеры ретровирусного вектора включают MSCVneo, MSCV-pac (или MSCV-puro), MSCV-hygro, доступные у Addgene или Clontech.

Термин «транспозон Sleeping Beauty» или «вектор на основе транспозона Sleeping Beauty» относится к вектору, полученному по меньшей мере из части генома транспозона Sleeping Beauty.

Термин «вариабельная область одной цепи» или «scFv» относится к гибриднему белку, содержащему по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариабельную область легкой цепи, и по меньшей мере один фрагмент антитела,

содержащий вариабельную область тяжелой цепи, при этом вариабельные области легкой и тяжелой цепи связаны непрерывно, например, с помощью синтетического линкера, например, короткого гибкого полипептидного линкера, и способны экспрессироваться в виде одноцепочечного полипептида, и при этом scFv сохраняет специфичность интактного антитела, из которого scFv получен. Если не указано иное, используемый в данном документе scFv может иметь вариабельные области VL и VH в любом порядке, например, относительно N-концевых и C-концевых частей полипептида, scFv может включать VL-линкер-VH или может включать VH-линкер-VL. В данном раскрытии scFv также описывается как vL-Gly-Ser-Линкер-vH. Альтернативно, scFv также описывается как (vL+vH) или (vH+vL).

Термин «сигнальный домен» относится к функциональной области белка, который передает информацию внутри клетки для регуляции клеточной активности посредством определенных сигнальных путей, генерируя вторичные мессенджеры или функционируя в качестве эффекторов, реагируя на такие мессенджеры.

Термин «синтетический антигенный рецептор» или «SAR» относится к неприродному полипептиду, который при экспрессии в эффекторной клетке придает клетке специфичность в отношении клетки-мишени, обычно неопластической клетки. SAR представляют собой сконструированные рецепторы, которые прививают антигенную специфичность клеткам (например, Т-клеткам, NK-клеткам, NKT-клеткам, моноцитам/макрофагам, В-лимфоцитам или их комбинации), таким образом, объединяя антигенсвязывающие свойства антигенсвязывающего домена с эффекторной функцией клетки. Примеры эффекторных функций Т- и NK-клеток могут включать лизис клеток-мишеней, продуцирование цитокинов и самообновление. Для моноцитов/макрофагов эффекторная функция может включать фагоцитоз клетки-мишени. SAR, как этот термин определен в данном документе, охватывает CAR первого поколения, CAR 2-го поколения, CAR 3-го поколения и CAR следующего поколения, такие как синтетические иммунные рецепторы (SIR), cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP (например, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ), TAC, рекомбинантный TCR и т.п. SAR может быть одноцепочечным, двухцепочечным или полторацепочечным. SAR может быть моноспецифическим, биспецифическим или мультиспецифическим. SAR может иметь один или несколько антигенсвязывающих доменов. SAR может иметь каркас CAR (например, CAR 2-го поколения), SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP, TAC или TCR. SAR, как упоминается в данном документе, включают рецепторы искусственных Т-клеток, химерные рецепторы Т-клеток или химерные иммунорецепторы. Однако термин SAR не ограничивается Т-клеточным рецептором или иммунорецептором. SAR может иметь или не иметь собственный

сигнальный домен. Примерный SAR, в котором отсутствует собственный сигнальный домен, представляет собой SAR с каркасом SIR или TCR, которые передают сигнал посредством рекрутирования других сигнальных белков, обладающих сигнальным доменом. SAR может быть любым не встречающимся в природе антигенсвязывающим рецептором (АСР). Термин «антигенсвязывающий домен» или «антигенспецифичный нацеливающий домен», используемый в данном документе, относится к области SAR, которая нацеливается и связывается со специфичными антигенами. Антигенсвязывающий домен SAR может состоять из антитела или фрагмента антитела (например, vL, vH, Fv, Fab, scFv, vHH, однодоменного антитела и т.п.), Т-клеточного рецептора (TCR) или фрагмента TCR (например, Va, Vb, Vg, Vd или TCR с одним переменным доменом и т.п.). Антигенсвязывающий(ие) домен(ы) SAR может состоять из одного или нескольких автономных антигенсвязывающих доменов (AABD), таких как неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов (например, дарпин, центирин, аффибоди, домен D и т.п.), рецептор-связывающий домен лиганда, лиганд-связывающий домен рецептора, аутоантиген, адаптер-связывающий домен (например, RZIP, EZIP, E4, K4, NKG2D-AF и т.п.), Fc-связывающий домен рецептора (например, Fc-связывающий домен область CD16A-V158, CD32, CD64 и т.п.) или их комбинации. SAR может иметь один или несколько антигенсвязывающих доменов. Различные модули и домены SAR могут быть связаны одним или несколькими линкерами. SAR также может содержать одну или несколько эпитопных меток или мимеотопов, которые можно использовать для обнаружения экспрессии SAR, для выделения и очистки клеток, экспрессирующих SAR, для мониторинга персистенции клеток, экспрессирующих SAR, и для истощения клеток, экспрессирующих SAR. В одном воплощении эпитоп и/или мимеотопы являются мишенью для антитела, фрагмента антитела, производного антитела (например, конъюгата антитело-лекарственное средство), чтобы служить в качестве «суицидного переключателя» для уменьшения или устранения SAR-экспрессирующих клеток в случае токсичности. Когда SAR экспрессируется в клетке-хозяине, этот домен образует внеклеточный домен (эктодомен).

Термин «SVH-домен», используемый в настоящей заявке, относится к антителу с одним доменом VH человека (VH sdAb). Таким образом, эти термины используются взаимозаменяемо. Термин SVH также используется взаимозаменяемо с независимыми доменами vH. SVH является примером автономного антигенсвязывающего домена (AABD). Примерный SVH представляет собой полностью человеческий домен vH (FHVH), представленный в SEQ ID NO (DNA): 827-828 и SEQ ID NO (PRT): 11517-11518. Другой примерный SVH представляет собой домен chVH, представленный в SEQ ID NO

(DNA): 830-831 и SEQ ID NO (PRT): 11520-11521. Другой примерный SVH представляет собой домен aVH, представленный в SEQ ID NO (DNA): 850-851 и SEQ ID NO (PRT): 11540-11541. Номера SEQ ID других примерных SVH-доменов представлены в таблице 5. Дополнительные домены SVH, которые можно использовать при конструировании SAR по раскрытию, представлены в WO 2016062988, WO2016113556, WO2017191476, WO2018039180, WO2019006072, WO2018237037, WO2018119215, WO2019126756, WO2019055689 и WO2020018922, которые полностью включены в настоящую заявку ссылкой.

Термин «SVL-домен», используемый в настоящей заявке, относится к антителу с одним доменом vL человека (vL sdAb). Таким образом, эти термины используются взаимозаменяемо. Термин SVL также используется взаимозаменяемо с независимыми доменами vL. SVL является примером автономного антигенсвязывающего домена (AABD).

Используемый в данном документе термин «Т-клеточный рецептор с одиночным переменным доменом» или «svd-TCR» относится к переменному домену Т-клеточного рецептора, способному специфически связываться с эпитопом в отсутствие второго переменного домена TCR. Например, svd-TCR, содержащий переменный домен Vb, способен связываться с эпитопом независимо от переменного домена Va и/или в его отсутствие, а svd-TCR, содержащий переменный домен Va, способен связываться с эпитопом независимо от переменного домена pb и/или в отсутствие. Примерные эпитопы, распознаваемые svd-TCR, включают комплексы пептид:МНС (комплексы рМНС).

Термин «синтетический иммунный рецептор» или, альтернативно, «SIR» относится к набору полипептидов, обычно двум в некоторых воплощениях, которые при экспрессии в эффекторной клетке придают клетке специфичность в отношении клетки-мишени, обычно раковой клетки, с генерацией внутриклеточного сигнала. SIR представляют собой платформы SAR следующего поколения, которые описаны в WO 2018/102795 A1, которая включена в настоящую заявку ссылкой. В примерном воплощении SIR содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов (например, антитело или фрагмент антитела, лиганд или рецептор), которые связываются с антигенами, как описано в настоящей заявке, и присоединены к одной или нескольким константным цепям или областям Т-клеточного рецептора через необязательный линкер. В некоторых воплощениях набор полипептидов является смежным друг с другом. В некоторых воплощениях SIR включает два или более набора из двух или более полипептидов. Полипептиды каждого набора SIR являются смежными друг с другом (функциональная полипептидная единица 1), но не

являются смежными с полипептидами другого набора (функциональная полипептидная единица 2). В некоторых воплощениях константные цепи (или участки) Т-клеточного рецептора SIR выбирают из константной цепи человеческого Т-клеточного рецептора-альфа (TCR-альфа, или TCR α , или TCR α , или hTCR-альфа, или hTCR α , или hTCR α , или C α), человеческого Т-клеточного рецептора-бета1 (TCR-бета1 или TCR β 1, или TCR β 1, или hTCR-бета1, или hTCR β 1, или hTCR β 1, или C β 1), человеческого Т-клеточного рецептора-бета-2 (TCR-бета2, или TCR β 2, или TCR β 2, или hTCR-бета2, или hTCR β 2, или hTCR β 2, или C β 2 также обозначается как TCR-бета, TCR β или TCR β или C β), человеческого пре-Т-клеточного рецептора-альфа ((preTCR-альфа или preTCR α или preTCR α или preC α), человеческого Т-клеточного рецептора-гамма (TCR-гамма или TCR γ , или TCR γ , или hTCR-гамма, или hTCR γ , или hTCR γ , или hTCR γ 1, или hTCRgamma1, или C γ), или человеческого Т-клеточного рецептора-дельта (TCR-дельта, или TCR δ , или TCR δ , или hTCR-дельта, или hTCR δ , или hTCR δ , или C δ). В некоторых воплощениях константные цепи TCR из SIR кодируются их нуклеотидными последовательностями дикого типа, в то время как в других аспектах константные цепи TCR из SIR кодируются нуклеотидными последовательностями, которые не являются нуклеотидными последовательностями дикого типа. В некоторых воплощениях константные цепи TCR из SIR кодируются их кодон-оптимизированными последовательностями. В некоторых воплощениях константные цепи TCR из SIR кодируют полипептидные последовательности дикого типа, тогда как в других воплощениях константные цепи TCR из SIR кодируют полипептиды, которые несут одну или несколько мутаций. В некоторых воплощениях константные цепи TCR из SIR кодируются их кодон-оптимизированными последовательностями, которые несут одну или несколько мутаций. В описании также рассматриваются делеционные мутанты константных цепей TCR, которые сохраняют по меньшей мере одно из биологических и функциональных свойств соответствующей полноразмерной цепи TCR. SIR, который содержит антигенсвязывающий домен (например, scFv или vHH), нацеленный на конкретный продуцент опухоли «X», такой как описанный в настоящей заявке, также называется X-SIR или XSIR. Например, SIR, который содержит антигенсвязывающий домен, нацеленный на CD19, называется CD19-SIR или CD19SIR. Константная цепь/домен TCR из SIR может происходить от того же вида, у которого в конечном итоге будет использоваться SIR. Например, для применения у людей может быть выгодно, чтобы константная цепь TCR из SIR была получена из константных цепей TCR человека или состояла из них. Однако в некоторых случаях полезно, чтобы константная цепь TCR была получена из тех же видов, у которых в конечном итоге будет использоваться SIR, но модифицирована для внесения

аминокислотных замен, которые усиливают экспрессию константных цепей TCR. Например, для применения у людей может быть выгодно, чтобы константная цепь TCR из SIR была получена из константных цепей TCR человека или состояла из них, но в которой некоторые аминокислоты были бы заменены соответствующими аминокислотами из константных цепей TCR мыши. Такие мураинизированные константные цепи TCR обеспечивают повышенную экспрессию SIR. SIR или его функциональная часть может включать дополнительные аминокислоты на амино- или карбокси-конце или на обоих концах, при этом дополнительные аминокислоты не встречаются в аминокислотной последовательности TCR или антигенсвязывающего домена, составляющих SIR. Желательно, чтобы дополнительные аминокислоты не мешали биологической функции SIR или функциональной части, например, распознавать клетки-мишени, обнаруживать рак, лечить или предотвращать рак и т.п. Более желательно, чтобы дополнительные аминокислоты усиливали биологическую активность по сравнению с биологической активностью исходного SIR. В этом раскрытии предлагаются биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR, в основе которых SIR лежит один или несколько AABD. Домены AABD из SAR раскрытия с каркасом SIR могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном из воплощений в раскрытии предлагается SIR, содержащую один или несколько полностью человеческих доменов vH. В одном из воплощений Ab-TCR, содержащие один или несколько полностью человеческих доменов vL.

Термин «стимуляция» относится к первичному ответу, индуцированному связыванием стимулирующей молекулы (например, комплекса TCR/CD3) с его родственным лигандом (или антигеном-мишенью), тем самым опосредуя событие передачи сигнала, такое как, без ограничения указанным, передача сигнала через TCR/CD3. Стимуляция может опосредовать измененную экспрессию определенных молекул.

Термин «стимулирующая молекула» относится к молекуле, экспрессируемой иммунной клеткой (например, Т-клеткой, НК-клеткой, В-клеткой), которая обеспечивает цитоплазматическую(ие) сигнальную(ые) последовательность(и), которая регулирует активацию иммунной клетки стимулирующим образом, по меньшей мере, в некотором аспекте сигнального пути иммунных клеток.

Предполагается, что термин «субъект» включает живые организмы, у которых может быть вызван иммунный ответ (например, любые домашние млекопитающие или человек). Термины «субъект», или «индивидуум», или «животное», или «пациент» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения любого субъекта, в

частности субъекта-млекопитающего, которому желательно введение композиции или фармацевтической композиции согласно раскрытию. Субъекты-млекопитающие включают людей, приматов, отличных от человека, собак, кошек, морских свинок, кроликов, крыс, мышей, лошадей, крупный рогатый скот, коров и т.п., причем люди являются предпочтительными.

«Домен переключения» или «домен димеризации», используемый в настоящей заявке, обычно относится к структуре на основе полипептида, который в присутствии молекулы димеризации связывается с другим доменом переключения. Ассоциация приводит к функциональному соединению первой структуры, связанной, например, объединенной с первым доменом переключения, и второй структуры, связанной, например, объединенной со вторым доменом переключения. Первый и второй домены переключения вместе называются переключателем димеризации.

Термин «антиген-мишень» относится к антигену, который связывается с антигенсвязывающим агентом (например, антителом, фрагментом антитела, SAR-T-клеткой, адаптером SAR и т.п.). Термин «клетка, экспрессирующая антиген-мишень» относится к клетке, т.е. клетке-мишени, которая экспрессирует антиген, связанный антигенсвязывающим агентом. В одном воплощении клетка, экспрессирующая SAR раскрытия, подвергается активации, пролиферации и индуцирует эффекторные функции (например, выработку цитокинов, цитотоксичность и т.п.), когда она связывает свою клетку, экспрессирующую антиген-мишень, прямо или косвенно через SAR-адаптер. Неограничивающие примеры антигенов-мишеней перечислены в таблице В. SAR раскрытия может связывать один или несколько (например, 2, 3, 4, 5 или более) антигенов-мишеней, перечисленных в таблице В, либо непосредственно, либо через адаптеры SAR, описанные в настоящей заявке.

Таблица В

<p>Таблица В: Примерные антигены, на которые нацелены антитела, фрагменты антител (например, scFv), AABD (например, FHVH, vHH, дарпин, центирин, домены D, адаптеры и т. д.) и SAR раскрытия</p>

CD5; CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS1 (также называемый CD2 подгруппы 1, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); лектиноподобная молекула-1 С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; вариант III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRviii); ганглиозид G2 (GD2); ганглиозид GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); В-клеточный антиген созревания, представитель семейства рецепторов TNF (BCMA); антиген Tn (Tn Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr); простатспецифичный мембранный антиген (PSMA); орфанный рецептор 1, подобный рецепторной тирозинкиназы (ROR1); Fms-подобная тирозинкиназа 3 (FLT3); опухолеассоциированный гликопротеин 72 (TAG72); CD38; CD44v6; гликозилированный эпитоп CD43, экспрессируемый при остром лейкозе или лимфоме, но не на гемопоэтических предшественниках, гликозилированный эпитоп CD43, не экспрессируемый при гемобластозах, карциноэмбриональный антиген (CEA); молекула адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); V7H3 (CD276); KIT (CD117); субъединица альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелин; рецептор интерлейкина 11 альфа (IL-11Ra); антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновая протеаза 21 (тестизина или PRSS21); рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); антиген Льюиса (Y); CD24; бета-рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFR-бета); стадиоспецифичный эмбриональный антиген-4 (SSEA-4); CD20; альфа-рецептор фолиевой кислоты (FRa или FR1); бета-рецептор фолиевой кислоты (FRb); рецепторная тирозинпротеинкиназа ERBB2 (Her2/neu); муцин 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1); рецептор эпидермального фактора роста (EGFR); молекула адгезии нервных клеток (NCAM); простаза; кислая фосфатаза предстательной железы (PAP); мутированный фактор элонгации 2 (ELF2M); эфрин B2; альфа-белок активации фибробластов (FAP); рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептора IGF-I), карбоангидраза IX (CAIX); субъединица протеасомы (просома, макропаин), бета-типа, 9 (LMP2); гликопротеин 100 (gp100); онкогенный гибридный белок, состоящий из кластерной области точки разрыва (BCR) и гомолог 1 вирусного онкогена мышинового лейкоза Абельсона (Abl) (bcg-abl); тирозиназа; рецептор 2 эфрина типа A (EphA2); сиалиловая молекула адгезии Льюиса (sLe); ганглиозид GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDCIalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); трансклутаминаза 5 (TGS5); ассоциированный с меланомой высокомолекулярный антиген (HMWMAA); ганглиозид о-ацетил-GD2 (OAcGD2); опухолевый эндотелиальный маркер 1 (TEM1/CD248); связанный с опухолевым эндотелиальным маркером 7 (TEM7R); клаудин 6 (CLDN6); рецептор тиреотропного гормона (TSHR); сопряжённый с G-белком рецептор, класс C, группа 5, представитель D (GPRC5D); открытая рамка считывания 61 хромосомы X (CXORF61); CD97; CD179a; киназа анапластической лимфомы (ALK); полисиаловая кислота; плацентарно-специфичный белок 1 (PLAC1); гексасахаридная часть гликоцерамида globoH (GloboH);

антиген дифференцировки молочной железы (NY-BR-1); уроплакин 2 (UPK2); клеточный рецептор 1 вируса гепатита А (HAVCR1); адренорецептор бета 3 (ADRB3); паннексин 3 (PANX3); сопряжённый с G-белком рецептор 20 (GPR20); комплекс лимфоцитарного антигена 6, локус К 9 (LY6K); обонятельный рецептор 51E2 (OR51E2); белок альтернативной рамки считывания TCR гамма (TARP); белок опухоли Вильмса (WT1); антиген рака/семенников 1 (NY-ESO-1); антиген рака/семенников 2 (LAGE-1a); антиген 1, ассоциированный с меланомой (MAGE-A1); ген 6 транслокационного варианта ETS, расположенный на хромосоме 12p (ETV6-AML); белок спермы 17 (SPA17); представитель 1A семейства X-антигена (XAGE1); рецептор 2 клеточной поверхности, связывающий ангиопоэтин (Tie 2); антиген-1 меланомы, рака/семенников (MAD-CT-1); антиген-2 меланомы, рака/семенников (MAD-CT-2); Fos-родственный антиген 1; опухолевый белок p53 (p53); мутант p53; простаин; сурвивин; теломераза; опухолевый антиген-1 карциномы предстательной железы (PCT A-1 или галектина 8), антиген-1 меланомы, распознаваемый Т-клетками (MelanA или MART1); мутант белка саркомы крысы (Ras); обратная транскриптаза теломеразы человека (hTERT); точка останова транслокации саркомы; ингибитор апоптоза меланомы (ML-IAP); ERG (сериновая трансмембранная протеаза 2 (TMPRSS2) гибридного гена ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансфераза V (NA17); парный бокс-белок 3, Pax-3 (PAX3); рецептор андрогена; циклин B1; v-мус, гомолог вирусного онкогена миелоцитоматоза птиц, гомолог, происходящий из нейробластомы (MYCN); представитель C семейства гомологов Ras (RhoC); родственная тирозиназе белок 2 (TRP-2); Цитохром P4501B1 (CYP1B1); CCCTC-связывающий фактор подобного (белкам с цинковым пальцем) (BORIS или Brother of the Regulator of Imprinted Sites), антиген-3 плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками (SART3); парный бокс-белок 5, Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающий белок sp32 (OY-TES1); специфическая для лимфоцитов протеинтирозинкиназа (LCK); якорный белок-4 А-киназы (AKAP-4); белок синовиальной саркомы, точечный разрыв-2 X (SSX2); рецептор конечных продуктов гликозилирования (RAGE-1); почечный убиквитарный белок-1 (RU1); почечный убиквитарный белок-2 (RU2); легумаин; Е6 вируса папилломы человека (HPV E6); Е7 вируса папилломы человека (HPV E7); кишечная карбоксиэстераза; мутированный белок теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; ассоциированный с лейкоцитами иммуноглобулин-подобный рецептор 1 (LAIR1); Fc-фрагмент рецептора IgA (FCAR или CD89); представитель 2 подсемейства А лейкоцитарных иммуноглобулин-подобных рецепторов (LILRA2); представитель f семейства белков, подобных молекулам CD300 (CD300LF); представитель А семейства 12 доменов лектина С-типа (CLEC12A); антиген-2 стромальных клеток костного мозга (BST2); белок-2, подобный муциноподобному гормональному рецептору, содержащему EGF-подобный модуль (EMR2); лимфоцитарный

антиген 75 (LY75); глипикан-3 (GPC3); Fc-рецептор-подобный 5 (FCRL5); и полипептид-1, подобный иммуноглобулину лямбда (IGLL1), MPL, биотин, эпитопная метка с-MYC, CD34; LAMP1 TROP2, GFRальфа4, CDH17, CDH6, NYBR1, CDH19, CD200R, SleA (CA19.9; сиалиновый антиген Льюиса), Фукозил-GM1, PTK7, gpNMB, CDH1-CD324, DLL3; CD276/B7H3; IL11Ra; IL13Ra2; CD179b-IGL11; TCR гамма-дельта; NKG2D, CD32 (FCGR2A); Tn ag, Tim1-/HVCR1, CSF2RA (GM-CSFR-альфа), TGFбетаR2, Lews Ag, цепь TCR-бета1, цепь TCR-бета2, цепь TCR-гамма, цепь TCR-дельта, FITC, рецептор лейтенизирующего гормона (LHR), рецептор фолликулостимулирующего гормона (FSHR), рецептор гонадотропного гормона (CGHR или GR), CCR4, GD3, SLAMF6, SLAMF4, гликопротеин оболочки HIV1, HTLV1-Tax, CMV pp65, EBV-EBNA3c, KSHV K8.1, KSHV-gH, гемагглютинин гриппа А (HA), GAD, PDL1, гуанилилциклаза С (GCC), аутоантитело к десмоглеину 3 (Dsg3), аутоантитело к десмоглеину 1 (Dsg1), HLA, HLA-A, HLA-A2, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-G, IgE, CD99, Ras G12V, тканевой фактор 1 (TF1), AFP, GPRC5D, клаудин 18.2 (CLD18A2 или CLDN18A.2), Р-гликопротеин, STEAP1, Liv1, нектин-4, Cripto, gpA33, BST1/CD157, хлоридный канал с низкой проводимостью (LCCC), TAJ/TROY, MPL (TPO-R), KIR3DL2, CD32b, CD229, Toso и BAFF-R.

Термины «Т-клетка» и «Т-лимфоцит» являются взаимозаменяемыми и используются в данном документе как синонимы. Примеры включают, без ограничения указанным, наивные Т-клетки («лимфоциты-предшественники»), центральные Т-клетки памяти, эффекторные Т-клетки памяти, стволовые Т-клетки памяти (Tscm), Т-клетки, полученные из ИПСК, синтетические Т-клетки или их комбинации.

Термин «терапия антителами, активирующими Т/НК-клетки», используемый в данном документе, относится к терапии антителами, которые активируют Т- и/или НК-клетки. Примеры терапии антителами, активирующими Т/НК-клетки, включают биспецифичные антитела, взаимодействующие с Т-клетками (например, блинатумомаб), или биспецифичные антитела, взаимодействующие с НК-клетками.

TCR описаны с применением номенклатуры TCR Международной иммуногенетики (IMGT) и ссылок на общедоступную базу данных последовательностей TCR IMGT. Нативные альфа-бета гетеродимерные TCR имеют альфа-цепь (TCR α или TCRa) и бета-цепь (TCR β или TCRb). Гамма-дельта гетеродимерные TCR имеют гамма (TCR γ) и TCR-дельта (TCR δ) цепи. В широком смысле каждая цепь включает переменную, соединительную и константную области, а бета-цепь также обычно содержит короткую область разнообразия между переменной и соединительной областями, но эту область разнообразия часто рассматривают как часть соединительной области. Каждая

вариабельная область содержит три CDR (области, определяющие комплементарность), встроенные в каркасную последовательность, одна из которых представляет собой гипервариабельную область, названную CDR3. Существует несколько типов вариабельных областей альфа-цепи ($V\alpha$ или Va) и несколько типов вариабельных областей бета-цепи ($V\beta$ или Vb), различающихся их каркасом, последовательностями CDR1 и CDR2 и частично определенной последовательностью CDR3. Типы $V\alpha/Va$ обозначаются в номенклатуре IMGT уникальным номером TRAV. Таким образом, «TRAV21» определяет область TCR $V\alpha/Va$, имеющую уникальную каркасную область и последовательности CDR1 и CDR2, и последовательность CDR3, которая частично определяется аминокислотной последовательностью, которая сохраняется среди TCR, но которая также включает аминокислотную последовательность, которая варьирует среди TCR. Таким же образом «TRBV5-1» определяет область TCR $V\beta/Vb$, имеющую уникальную каркасную область и последовательности CDR1 и CDR2, но только с частично определенной последовательностью CDR3. Вариабельные области TCR γ (TCR γ) и TCR δ (TCR δ) обозначаются как Vg и Vd , соответственно. Вариабельные области TCR (например, $V\alpha$, $V\beta$, $V\gamma$, $V\delta$) могут связываться с антигеном, зависимым от МНС (или HLA) образом. Вариабельные области TCR (например, $V\alpha$, $V\beta$, $V\gamma$, $V\delta$) могут связываться с антигеном независимым от МНС (или HLA) образом. В примерном воплощении вариабельные области TCR (например, $V\alpha$, $V\beta$, $V\gamma$, $V\delta$) могут связываться с внеклеточными антигенами (например, CD19, CD20, CD22, мезотелином и т.п.) независимым от МНС (или HLA) образом. Такие TCR обозначаются как HLA-независимые TCR. В одном воплощении SAR раскрытия могут содержать HLA-зависимые и/или HLA-независимые вариабельные области TCR. В другом примерном воплощении SAR раскрытия могут содержать одну вариабельную область TCR и одну вариабельную область антитела. Таким образом, двухцепочечный SAR может состоять из фрагмента Va , присоединенного к константной цепи TCR α , и фрагмента vH (или vL), присоединенного к константной цепи TCR β . AABD может быть присоединен к одной или обоим цепям.

Обычно считается, что каждая α - и β -цепи $\alpha\beta$ -TCR имеют два «домена», а именно вариабельный и константный домены. Вариабельный домен состоит из конкатенации вариабельной области и соединительной области. В настоящем описании и формуле изобретения термин «вариабельный домен TCR-альфа или Va или $V\alpha$ », следовательно, относится к соединению в цепь областей TRAV и TRAJ, а термин константный домен TCR-альфа ($C\alpha$) относится к внеклеточной области TRAC или к C-концевой укороченной последовательности TRAC. Аналогично, термин «вариабельный домен бета-TCR или $V\beta$ или Vb » относится к соединению в цепь областей TRBV и TRBD/TRBJ, а термин

константный домен бета-TCR (C β) относится к внеклеточной области TRBC или к укороченной С-концевой последовательности TRBC.

TCR согласно настоящему изобретению могут быть не встречающимися в природе, и/или очищенными, и/или сконструированными. TCR согласно настоящему изобретению могут иметь более одной мутации, присутствующей в переменном домене альфа-цепи и/или переменном домене бета-цепи относительно исходного TCR. «Сконструированный TCR» и «мутантный TCR» используются в данном документе как синонимы и, как правило, означают TCR, который имеет одну или несколько мутаций, введенных по сравнению с родительским TCR, в частности, в его домене Va, и/или Vb, или Vg, и/или Vd. Сконструированный TCR может связываться с антигеном HLA-зависимым или HLA-независимым образом.

«HLA-независимый TCR» или «MHC-независимый TCR», как определено в настоящей заявке, представляет собой TCR, который может распознавать антиген независимо от рестрикции MHC. В примерном воплощении HLA-независимый TCR может связываться с антигеном на поверхности клетки, который не представлен комплексом MHC. В одном воплощении HLA-независимый TCR может связываться с антигеном, который экспрессируется на клеточной поверхности, независимо от презентации комплексом MHC. TCR, независимый от HLA, может быть природным TCR. В примерном воплощении HLA-независимый TCR представляет собой MC.7.G5 (MC7G5), который распознает MR1, повсеместно экспрессируемую мономорфную антигенпрезентирующую молекулу. HLA-независимый TCR может быть сконструированным или рекомбинантным TCR. В примерном воплощении HLA-независимый TCR представляет собой сконструированный TCR, который может связываться с белками, которые экспрессируются на клеточной поверхности, такими как CD19, CD20, мезотелин, PSMS или BCMA. Способы конструирования переменных доменов TCR (например, прививка CDR и т.п.) известны в данной области и могут быть использованы для создания HLA-независимых TCR, которые могут связываться с белками (например, CD19, MSLN, PSMA и т.п.) или белковыми эпитопами, экспрессируемыми внеклеточно независимо от комплекса MHC. В этом раскрытии предлагаются биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR с каркасом TCR, включая HLA-независимый TCR, содержащий один или несколько AABD. Домены AABD из SAR раскрытия с основой TCR (например, HLA-независимый TCR) могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном воплощении в раскрытии предлагается TCR (например, независимый от HLA TCR), содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vH. В одном из воплощений в раскрытии

предлагается TCR (например, независимый от HLA TCR), содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vL.

«HLA-независимый переменный домен TCR», как определено в настоящей заявке, представляет собой переменный домен TCR, который может связываться с антигеном HLA-независимым образом. Независимый от HLA переменный домен может быть переменным доменом независимого от HLA TCR α , TCR β , TCR γ , TCR δ или пре-TCR α . Независимый от HLA переменный домен TCR может представлять собой TCR с одним переменным доменом (т.е. svd-TCR). Независимый от HLA переменный домен TCR может представлять собой встречающийся в природе HLA-независимый переменный домен или сконструированный HLA-независимый переменный домен. В примерном воплощении сконструированный HLA-независимый переменный домен может быть создан против внеклеточного домена белка (например, CD19, CD22, BCMA, MSLN, PSMA) с применением методов, известных в данной области (например, прививка CDR, скрининг библиотек фагового дисплея и т.п.).

Термин «модуль Т-клеточного рецептора» или «TCRM» относится к гетеродимеру, содержащему последовательности, полученные из Т-клеточного рецептора. TCRM включает трансмембранные домены Т-клеточного рецептора и может дополнительно включать все или часть связывающих Т-клеточный рецептор пептидов и/или внутриклеточных доменов.

Термин «связанный с TCR сигнальный модуль» относится к молекуле, имеющей цитоплазматический иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM), который является частью комплекса TCR-CD3. Сигнальные модули, связанные с TCR, включают CD $\gamma\epsilon$, CD $\delta\epsilon$ и CD3 $\zeta\zeta$.

«Терапевтические агенты», при использовании в данной заявке, относятся к агентам, которые используются, например, для лечения, ингибирования, предотвращения, смягчения эффектов, уменьшения тяжести, снижения вероятности развития, замедления прогрессирования и/или лечения болезни. Заболевания, на которые нацелены терапевтические агенты, включают, без ограничения указанным, инфекционные заболевания, карциному, саркому, лимфому, лейкоз, опухоли зародышевых клеток, бластому, антигены, экспрессируемые на различных иммунных клетках, и антигены, экспрессируемые на клетках, связанных с различными гематологическими заболеваниями и/или воспалительными заболеваниями.

Используемый в данном документе термин «терапевтический контроль» относится к элементу, используемому для контроля активности клетки, экспрессирующей SAR (включая CAR следующего поколения). В некоторых воплощениях терапевтические

контроли для контроля активности SAR-экспрессирующих клеток по настоящему изобретению включают любой один или несколько из числа укороченного рецептора эпидермального фактора роста (tEGFR), укороченного рецептора эпидермального фактора роста viii (tEGFRviii), укороченного CD30 (tCD30), укороченного BCMA (tBCMA), укороченного CD19 (tCD19), тимидинкиназы, цитозиндезаминазы, нитроредуктазы, ксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, каспазы 8 человека, каспазы 9 человека, индуцибельной каспазы 9, пурипнуклеозидфосфорилазы, линамаразы/линамарина/глюкозооксидазы, дезоксирибонуклеозидкиназы, пероксидазы хрена (HRP)/индол-3-уксусной кислоты (IAA), гамма-глутамилцистеинсинтетазы, CD20/альфа-CD20, химеры CD34/тимидинкиназы, дох-зависимой каспазы-2, мутантной тимидинкиназы (HSV-TKSR39), системы AP1903/Fas, химерного цитокинового рецептора (CCR), селективного маркера и их комбинации.

Термин «терапевтический эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, без ограничения указанным, например, уменьшением объема опухоли, уменьшением количества раковых клеток, уменьшением количества метастазов, увеличением продолжительности жизни, снижением пролиферации раковых клеток, снижением выживаемости раковых клеток, снижением титра инфекционного агента, уменьшением количества колоний инфекционного агента, улучшением различных физиологических симптомов, связанных с болезненным состоянием. «Терапевтический эффект» также может проявляться способностью пептидов, полинуклеотидов, клеток и антител в первую очередь предотвращать возникновение заболевания или предотвращать рецидив заболевания.

Термин «терапевтически эффективное количество», используемый в настоящей заявке, относится к количеству фармацевтической композиции, содержащей один или несколько пептидов, раскрытых в настоящей заявке, или их мутант, вариант, аналог или производное, для уменьшения по меньшей мере одного или нескольких симптомов заболевания или расстройства, и относится к количеству фармакологической композиции, достаточному для обеспечения желаемого эффекта. Фраза «терапевтически эффективное количество», используемая в данном документе, означает количество композиции, достаточное для лечения расстройства, при разумном соотношении польза/риск, применимом к любой медицинской обработке.

Терапевтически или профилактически значимое уменьшение симптома составляет, например, по меньшей мере примерно 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60% по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80%, по

меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 100%, по меньшей мере на около 125%, по меньшей мере на около 150% или более в измеренном параметре по сравнению с контрольным или необработанным субъектом или состоянием субъекта до введения описанных в данном документе олигопептидов.

Термин «гибридные белки рецептора TCR» или «англ. TCR receptor fusion proteins, TFP» относится к платформе SAR следующего поколения, как описано в WO 2016/187349 A1, которая включена в настоящую заявку ссылкой. В одном воплощении TFP содержит фрагмент антитела, который специфически связывается с антигеном-мишенью, объединенным с цепью TCR, такой как CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , TCR α или TCR β . Примеры цепей TCR, которые можно использовать в конструировании TFP, представлены SEQ ID NO: 11903-11906 настоящего описания и представлены в WO 2017/070608 A1, которая включена в настоящую заявку ссылкой. TFP, включающий цепь CD3 ϵ , называется CD3 ϵ TFP или TFP ϵ . TFP, включающий цепь CD3 γ , называется CD3 γ TFP или TFP γ . TFP, включающий цепь CD3 δ , называется CD3 δ TFP или TFP δ . TFP, включающие цепи CD3 ϵ , CD3 γ или CD3 δ , в совокупности обозначаются как CD3 $\epsilon/\gamma/\delta$ TFP или TFP $\epsilon/\gamma/\delta$. В этом раскрытии предлагаются биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR с каркасом TFP (например, TFP ϵ), включающей один или несколько AABD. Домены AABD из SAR раскрытия с каркасом TFP могут быть полностью человеческими, гуманизированными или нечеловеческими. В одном из воплощений в раскрытии предлагается TFP, содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vH. В одном воплощении в раскрытии предлагается TFP, содержащий один или несколько полностью человеческих доменов vL. В одном воплощении в раскрытии предлагается TFP, содержащий неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов (например, центрин или дарпин). В одном воплощении в раскрытии предлагается TFP, содержащий домен связывания адаптера (например, домен лейциновой молнии, например, RZip, Ezip, E4, K4 и т.п.).

Термин «трансферный вектор» относится к композиции вещества, которая включает выделенную нуклеиновую кислоту и которая может быть использована для доставки выделенной нуклеиновой кислоты внутрь клетки. Примеры вирусных трансферных векторов включают, без ограничения указанным, аденовирусные векторы, аденоассоциированные вирусные векторы, ретровирусные векторы, лентивирусные векторы и т.п.

«Трансмембранный домен» (ТМД) в данном контексте относится к области SAR, которая пересекает плазматическую мембрану. Трансмембранный домен SAR раскрытия представляет собой трансмембранную область трансмембранного белка (например,

трансмембранных белков типа I), искусственную гидрофобную последовательность или их комбинацию. Другие трансмембранные домены будут очевидны специалистам в данной области и могут использоваться в связи с альтернативными воплощениями изобретения. В некоторых воплощениях SAR, кодируемый ТМД, содержит трансмембранный домен, выбранный из трансмембранного домена TCR α , TCR β , TCR γ , цепи TCR δ Т-клеточного рецептора, CD3 γ , CD3 ϵ , CD3 δ , CD3 ζ , FcR γ , CD28, CD45, CD4, CD5, CD8, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D и/или NKG2C.

Используемый в данном документе термин «трифункциональный связыватель антигенов Т-клеток» или «Tri-TAC» или «TAC» относится к платформе SAR следующего поколения, описанной в WO 2015/117229 A1, которая включена в настоящую заявку ссылкой. Tri-TAC, нацеленный на различные антигены, может быть сконструирован с применением антигенсвязывающих доменов (например, фрагментов vL и vH, scFv, vHH, лигандов и рецепторов и т.п.), описанных в данном описании, с применением методов, известных в данной области.

Используемые в данном документе термины «лечить», «лечение», «лечиться» или «улучшение» относятся к терапевтическим методам лечения, цель которых состоит в том, чтобы обратить вспять, облегчить, улучшить, ингибировать, замедлить или остановить прогрессирование или тяжесть состояния, связанного с заболеванием или расстройством.

«Опухоль», при использовании в данной заявке, относится ко всему росту и пролиферации неопластических клеток, злокачественных или доброкачественных, а также ко всем предопухолевым и раковым клеткам и тканям.

«Вектор», «клонированный вектор» и «экспрессирующий вектор», используемые в данном документе, относятся к носителю, с помощью которого полинуклеотидная последовательность (например, чужеродный ген) может быть введена в клетку-хозяина, чтобы трансформировать хозяина и стимулировать экспрессию (например, транскрипцию и трансляцию) введенной последовательности. Векторы включают плазмиды, фаги, вирусы и т.п.

Термин «вирусный вектор» относится к вектору, полученному или полученному из вируса. Как правило, вирус представляет собой ретровирус, включая, без ограничения указанным, лентивирусы и гамма-ретровирусы. Вирусный вектор по настоящему изобретению может представлять собой ретровирусный вектор, такой как гамма-ретровирусный вектор. Вирусный вектор по настоящему изобретению может представлять собой лентивирусный вектор.

Термин «дзета» или, альтернативно, «дзета-цепь», «CD3-дзета» или «TCR-дзета» определяется как белок, представленный под учетным № GenBank BAG36664.1, или

эквивалентными остатками нечеловеческого вида.

Связывающий домен SAR связывается с желаемым эпитопом или антигеном. Например, эпитоп, распознаваемый SAR, определяется из эпитопа, распознаваемого scFv, используемого в качестве связывающего домена SAR. Например, поскольку антиген-специфичный домен SAR CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-CD8TM-BBz-T2A-PAC (SEQ ID NO: 7340) нацеленный на CD19, состоит из гуманизированного scFv (SEQ ID NO: 11323), то ожидается, что SAR нацелен на тот же самый эпитоп, что и scFv и/или исходное антитело, из которого получен scFv. Эпитопы, распознаваемые несколькими scFv и/или их родительскими антителами, используемыми при конструировании SAR и остовов по настоящему описанию, известны в данной области. В качестве альтернативы, эпитоп, являющийся мишенью для AMR или SAR, может быть определен путем создания серии мутантов его целевого антигена и тестирования способности мутантов связываться с клетками, экспрессирующими SAR, с применением методов, известных в данной области, например, с применением анализа Topanga. Например, эпитоп, распознаваемый SAR CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-CD8TM-BBz-T2A-PAC (SEQ ID NO: 7340), нацеленный на CD19, можно определить путем создания панели делеционных и точечных мутантов CD19-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac (DNA SEQ ID NO: 1282 и PRT SEQ ID NO: 11972). Мутантные конструкции будут трансфицированы в подходящую клеточную линию (например, клетки 293FT), а надосадочная жидкость, содержащая гибридный белок, будет собрана и проанализирована на активность NLuc, чтобы гарантировать, что различные мутантные гибридные белки CD19-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis секретируются в надосадочную жидкость. Впоследствии гибридные белки будут протестированы на их способность связываться с клетками (например, клетками Jurkat или Т-клетками), экспрессирующими SAR-конструкцию (SEQ ID NO: 7340). Мутант, который не может связываться с клетками, экспрессирующими SAR, является кандидатом на содержание эпитопа, являющегося мишенью для CD19-специфичного SAR. Альтернативный подход к определению эпитопа, распознаваемого конкретным SAR, может включать функциональный конкурентный анализ с различными тестируемыми антителами. Например, Т-клетки, экспрессирующие SAR (SEQ ID NO: 7340), можно культивировать совместно с клеточной линией, экспрессирующей CD19 (например, клетками RAJI), в отсутствие и в присутствии возрастающих концентраций различных тестируемых антител против CD19. В случае, если эпитоп, распознаваемый тестируемым антителом к CD19, перекрывается с эпитопом, распознаваемым SAR ((SEQ ID NO: 7340), можно ожидать, что тестируемое антитело будет блокировать уничтожение

клеток-мишеней и продуцирование цитокинов, индуцированных Т-клетками, экспрессирующими SAR (SEQ ID NO: 7340) дозозависимым образом. Неспецифическое антитело того же изотипа, что и тестируемое антитело, должно быть включено в качестве контроля, и ожидается, что оно не будет влиять на уничтожение клеток-мишеней и продуцирование цитокинов, индуцированную Т-клетками, экспрессирующими SAR. Точно так же специфичный SAR может быть экспрессирован в клетках Jurkat-NFAT-EGFP, и способность тестируемого антитела блокировать индукцию EGFP SAR-экспрессирующими клетками Jurkat-NFAT-GFP при совместном культивировании с линией клеток-мишеней может быть использована для определения того, может ли эпитоп, распознаваемый тестируемым антителом, перекрывается с эпитопом, распознаваемым указанным SAR.

Таблица 1

SEQ ID NO	Название вектора или компонента	SEQ ID NO	
1	pLenti-EF1a	17	LucPPE-146-1H2
2	pLenti-EF1a-DWPRE	18	LucPPE-133-1B2
3	MSCV-Bgl2-AvrII-EcoR1B1-Mlu-Sal-ClaI	19	LucPPE-78-0B10
4	pCCLc-MNDU3-WPRE	20	LucPPE49-7C6A
5	pCCLc-MNDU3-Eco-Nhe-Sal-WPRE	21	LucPpL-81-6G1
6	pCCLc-MNDU3 –delta-WPRE	22	CD8SP-StreptagII-R1-S-Protein-RBD-Mlu-mCD8-Hinge-TM
7	(EF1a)_Вариант_Промотора	23	TRAC-5-SA-F2A-CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-STOP-pA-Del-Exon1-TRAC-3
8	pSBbi-Pur	24	MNDU3-промотор
9	MSCVhygro-GLuc-HA	25	ДНК штрихкод 9
10	MSCVpac-GLUC-R03	26	ДНК штрихкод 10
11	pLENTI-NLuc-AcV5-Blast	27	ДНК штрихкод 11
12	pLENTI-Gluc-Flag-blast	28	ДНК штрихкод 12
13	PolyA	29	ДНК штрихкод 13
14	PolyA	30	ДНК штрихкод 13
15	PolyA		
16	PolyA		

Таблица 2

НАЗВАНИЕ	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	НАЗВАНИЕ	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD8_Сигнальный_Пептид	31	10721	(Gly4Ser)x3_Линкер	37	10727
CD8-SIGNAL-PEPTIDE	32	10722	(Gly4Ser)x3_Линкер	38	10728
IgH_Сигнальный_Пептид	33	10723	(GGGS)x3-Линкер	39	10729
IgH_Сигнальный_Пептид	34	10724	(GGGS)x3-Линкер	40	10730
TCRa-SP	35	10725	(GGSG)7 Линкер	41	10731
TCRb-SP	36	10726	(GGSG)7 Линкер 2	42	10732
(GGGS)x3 ЛИНКЕР	37	10727	DDAKK линкер	43	10733

Таблица 3

АНТИ-ГЕН-МИШЕНЬ	НАЗВАНИЕ vL	SEQ ID (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	НАЗВАНИЕ vH	SEQ ID (DNA)	SEQ ID (PRT)	scFv-DNA SEQ ID	scFv-PRT SEQ ID
ALK	Alk-48	46	10736	Alk-48	288	10978	530	11220
ALK	Alk-58	47	10737	Alk-58	289	10979	531	11221
BCMA	BCMA-huC12A3	48	10738	BCMA-huC12A3	290	10980	532	11222
BCMA	BCMA-J6M0	49	10739	BCMA-J6M0	291	10981	533	11223
CD123	CD123-CSL362	50	10740	CD123-CSL362	292	10982	534	11224
CD19	CD138	51	10741	CD138	293	10983	535	11225
CD19	CD179b	52	10742	CD179b	294	10984	536	11226
CD19	CD19Bu12	53	10743	CD19Bu12	295	10985	537	11227
CD19	FMC63	54	10744	FMC63	296	10986	538	11228
CD19	huFMC63-11	55	10745	huFMC63-11	297	10987	539	11229
CD20	CD20-2F2	56	10746	CD20-2F2	298	10988	540	11230
CD20	CD20-GA101	57	10747	CD20-GA101	299	10989	541	11231
CD22	CD22-h10F4	58	10748	CD22-h10F4	300	10990	542	11232
CD276	CD276-17	59	10749	CD276-17	301	10991	543	11233
CD30	CD30-5F11	60	10750	CD30-5F11	302	10992	544	11234
CD30	CD30-Ac10	61	10751	CD30-Ac10	303	10993	545	11235
CD32	CD32-Med9	62	10752	CD32-Med9	304	10994	546	11236
CD324	CD324-hSC10-17	63	10753	CD324-hSC10-17	305	10995	547	11237

CD324	CD324-SC10-6	64	10754	CD324-SC10-6	306	10996	548	11238
CD33b	CD33-huMyc9	65	10755	CD33-huMyc9	307	10997	549	11239
CD33	CD33-AF5	66	10756	CD33-AF5	308	10998	550	11240
CD34	CD34-hu4C7	67	10757	CD34-hu4C7	309	10999	551	11241
CD5	CD5-18	68	10758	CD5-18	310	11000	552	11242
CD5	CD5-9	69	10759	CD5-9	311	11001	553	11243
CD70	CD70-h1F6	70	10760	CD70-h1F6	312	11002	554	11244
CD79b	CD79b-2F2	71	10761	CD79b-2F2	313	11003	555	11245
CD79b	huMA79bv28	72	10762	huMA79bv28	314	11004	556	11246
CDH17	CDH17-PTA001A4	73	10763	CDH17-PTA001A4	315	11005	557	11247
CDH19	CDH19-16A4	74	10764	CDH19-16A4	316	11006	558	11248
CDH6	CDH6-NOV710	75	10765	CDH6-NOV710	317	11007	559	11249
CDH6	CDH6-NOV712	76	10766	CDH6-NOV712	318	11008	560	11250
CLEC5A	CLEC5A-3E12A2	77	10767	CLEC5A-3E12A2	319	11009	561	11251
CLEC5A	CLEC5A-8H8F5	78	10768	CLEC5A-8H8F5	320	11010	562	11252
CLL1	CLL1-M26	79	10769	CLL1-M26	321	11011	563	11253
CLL1	CLL1-M32	80	10770	CLL1-M32	322	11012	564	11254
CS1/SLA MF7	HuLuc64-[2]	81	10771	HuLuc64	323	11013	565	11255
CS1/SLA MF7	huLuc90	82	10772	huLuc90	324	11014	566	11256
CSF2RA	CSF2RA-Ab1	83	10773	CSF2RA-Ab1	325	11015	567	11257
CSF2RA	CSF2RA-Ab6	84	10774	CSF2RA-Ab6	326	11016	568	11258
DLL3	DLL3-hSC16-13	85	10775	DLL3-hSC16-13	327	11017	569	11259
DLL3	DLL3-hSC16-56	86	10776	DLL3-hSC16-56	328	11018	570	11260
EGFR	Цетуксима б	87	10777	Цетуксима б	329	11019	571	11261
EGFRviii	EGFRviii-2173	88	10778	EGFRviii-2173	330	11020	572	11262
EpCAM	EpCam1-D5K5	89	10779	EpCam1-D5K5	331	11021	573	11263
EpCAM	Epcam1-MM1	90	10780	Epcam1-MM1	332	11022	574	11264
FLT3	FLT3-NC7	91	10781	FLT3-NC7	333	11023	575	11265
HIV1-gp	HIV1-N6	92	10782	HIV1-N6	334	11024	576	11266

Фолатный рецептор-1	FR1-huMov19	93	10783	FR1-huMov19	335	11025	577	11267
GD2	GD2-hu14-18	94	10784	GD2-hu14-18	336	11026	578	11268
GD2	GD2-hu3F8	95	10785	GD2-hu3F8	337	11027	579	11269
GD3	GD3-KM-641	96	10786	GD3-KM-641	338	11028	580	11270
GFR4	GFR-альфа4-P4-6	97	10787	GFR-альфа4-P4-6	339	11029	581	11271
GM1	GM1-5B2	98	10788	GM1-5B2	340	11030	582	11272
GPRC5D	GPRC5D-ET150-18	99	10789	GPRC5D-ET150-18	341	11031	583	11273
GPRC5D	GPRC5D-ET150-5	100	10790	GPRC5D-ET150-5	342	11032	584	11274
Her2	Her2-Hu4D5	101	10791	Her2-Hu4D5	343	11033	585	11275
HIV1-gp100	HIV1-PGT-128	102	10792	HIV1-PGT-128	344	11034	586	11276
HIV1-gp100	HIV1-X5	103	10793	HIV1-X5	345	11035	587	11277
IL11Ra	IL11Ra-8E2	104	10794	IL11Ra-8E2	346	11036	588	11278
IL13Ra2	IL13Ra2-hu107	105	10795	IL13Ra2-hu107	347	11037	589	11279
IL13Ra2	IL13Ra2-Hu108	106	10796	IL13Ra2-Hu108	348	11038	590	11280
L1CAM	L1CAM-9-3-HU3	107	10797	L1CAM-9-3-HU3	349	11039	591	11281
LAMP1	LAMP1-humab1-2	108	10798	LAMP1-humab1-2	350	11040	592	11282
LAMP1	LAMP1-Mb4	109	10799	LAMP1-Mb4	351	11041	593	11283
Lym1	Lym1	110	10800	Lym1	352	11042	594	11284
Lym2	Lym2	111	10801	Lym2	353	11043	595	11285
MPL/TPO-R	MPL-111	112	10802	MPL-111	354	11044	596	11286
MPL/TPO-R	MPL-161-HL	113	10803	MPL-161-HL	355	11045	597	11287
MPL/TPO-R	MPL-161	114	10804	MPL-161	356	11046	598	11288
MPL/TPO-R	MPL-175	115	10805	MPL-175	357	11047	599	11289
TCRB1	TCRB1-E09	116	10806	TCRB1-E09	358	11048	600	11290
TCRB1	TCRB1-Jovi1	117	10807	TCRB1-Jovi1	359	11049	601	11291
TCRB2	TCRB2-CP01-D05	118	10808	TCRB2-CP01-D05	360	11050	602	11292

TCRB2	TCRB2-CP01-E05	119	10809	TCRB2-CP01-E05	361	11051	603	11293
TCRgd	TCRgd-G5-4	120	10810	TCRgd-G5-4	362	11052	604	11294
TnAg	TnAg	121	10811	TnAg	363	11053	605	11295
Tn-Muc1	Tn-Muc1-hu5E5	122	10812	Tn-Muc1-hu5E5	364	11054	606	11296
TROP2	TROP2-ARA47-HV3KV3	123	10813	TROP2-ARA47-HV3KV3	365	11055	607	11297
WT1/HLA-A2	WT1-Ab13	124	10814	WT1-Ab13	366	11056	608	11298
WT1/HLA-A2	WT1-Ab15	125	10815	WT1-Ab15	367	11057	609	11299
WT1/HLA-A2	WT1-Ab5	126	10816	WT1-Ab5-[2]	368	11058	610	11300
CD123	CD123-1172	127	10817	CD123-1172	369	11059	611	11301
CDH19	CDH19-4B10	128	10818	CDH19-4B10	370	11060	612	11302
Фолатный рецептор-beta	FR-бета-m923	129	10819	FR-бета-m923	371	11061	613	11303
B7J4	B7H4-hu22C10	130	10820	B7H4-hu22C10	372	11062	614	11304
B7H4	B7H4-hu1D11	131	10821	B7H4-hu1D11	373	11063	615	11305
CD23	CD23-p5E8	132	10822	CD23-p5E8	374	11064	616	11306
GCC	GCC-Ab229	133	10823	GCC-Ab229	375	11065	617	11307
CD200R	CD200R-huDx182	134	10824	CD200R-huDx182	376	11066	618	11308
AFP/HLA-A2	AFP-76	135	10825	AFP-76	377	11067	619	11309
AFP/HLA-A2	AFP-79	136	10826	AFP-79	378	11068	620	11310
BCMA	BCMA-ET-03	137	10827	BCMA-ET-03	379	11069	621	11311
BCMA	BCMA-huC11.D5.3L1H3	138	10828	BCMA-huC11.D5.3L1H3	380	11070	622	11312
BCMA	BCMA-huC13-F12	139	10829	BCMA-huC13-F12	381	11071	623	11313
CD123	CD123-DART-1	140	10830	CD123-DART-1	382	11072	624	11314
CD123	CD123-DART-2	141	10831	CD123-DART-2	383	11073	625	11315
CD123	CD123-1176	142	10832	CD123-1176	384	11074	626	11316
CD123	CD123-	143	10833	CD123-2B8	385	11075	627	11317

	2B8							
CD123	CD123-9D7	144	10834	CD123-9D7	386	11076	628	11318
CD123	CD123-3B10	145	10835	CD123-3B10	387	11077	629	11319
CD19	CD19-MEDI-3649	146	10836	CD19-MEDI-3649	388	11078	630	11320
CD19	CD19-Medrex-24D1	147	10837	CD19-Medrex-24D1	389	11079	631	11321
CD19	CD19-MOR0028	148	10838	CD19-MOR0028	390	11080	632	11322
CD19	CD19-hu-mROO5-1	149	10839	CD19-hu-mROO5-1	391	11081	633	11323
CD20	CD20-Ubli-v4	150	10840	CD20-Ubli-v4	392	11082	634	11324
CD20	CD20-7D8	151	10841	CD20-7D8	393	11083	635	11325
CD33	CD33-SGNh2H12	152	10842	CD33-SGNh2H12	394	11084	636	11326
CD99	CD99-hu12E7	153	10843	CD99-hu12E7	395	11085	637	11327
CLL1	CLL1-21C9-L2H3	154	10844	CLL1-21C9-L2H3	396	11086	638	11328
CLL1	CLL1-6E7L4H1e	155	10845	CLL1-6E7L4H1e	397	11087	639	11329
CLL1	CLL1-hu1075-v1	156	10846	CLL1-hu1075-v1	398	11088	640	11330
CLL1	CLL1-hu1075-v2	157	10847	CLL1-hu1075-v2	399	11089	641	11331
FITC	FITC-4M-53	158	10848	FITC-4M-53	400	11090	642	11332
FITC	FITC-E2	159	10849	FITC-E2	401	11091	643	11333
GPRC5D	GPRC5D-ET150-1	160	10850	GPRC5D-ET150-1	402	11092	644	11334
GPRC5D	GPRC5D-ET150-2	161	10851	GPRC5D-ET150-2	403	11093	645	11335
HLA-A2	HLA-A2-3PB2	162	10852	HLA-A2-3PB2	404	11094	646	11336
Легкая цепь каппа	Каппа-LC1	163	10853	Каппа-LC1	405	11095	647	11337
CD19	hCD19-EUK5-13	164	10854	hCD19-EUK5-13	406	11096	648	11338
Streptag (Streп-метка)	Streptag	165	10855	Streptag	407	11097	649	11339
BCMA	BCMA-huC13-F12-L1H22	166	10856	BCMA-huC13-F12-L1H22	408	11098	650	11340

BCMA	BCMA-huC12A3-L3H32	167	10857	BCMA-huC12A3-L3H32	409	11099	651	11341
MPL/TPO-R	Hu-161-2	168	10858	Hu-161-2	410	11100	652	11342
CD22	CD22-5	169	10859	CD22-5	411	11101	653	11343
CD22	CD22-10	170	10860	CD22-10	412	11102	654	11344
CD22	CD22-31	171	10861	CD22-31	413	11103	655	11345
CD22	CD22-53	172	10862	CD22-53	414	11104	656	11346
CD22	CD22-65	173	10863	CD22-65	415	11105	657	11347
MPL/TPO-R	MPL-hu-175-2	174	10864	MPL-hu-175-2	416	11106	658	11348
MPL/TPO-R	MPL-hu-111-2	175	10865	MPL-hu-111-2	417	11107	659	11349
CD179a	CD179a-2460-B04	176	10866	CD179a-2460-B04	418	11108	660	11350
CD179a	CD179a-2462-E07	177	10867	CD179a-2462-E07	419	11109	661	11351
CD22	CD22-HA22	178	10868	CD22-HA22	420	11110	662	11352
STEAP1	STEAP1-hu120	179	10869	STEAP1-hu120	421	11111	663	11353
Liv1	hLiv1-mAb2	180	10870	hLiv1-mAb2	422	11112	664	11354
Нектин4	hu-Нектин4-mAb1	181	10871	hu-Нектин4-mAb1	423	11113	665	11355
КРИТО	hu-Крипто-L1H2	182	10872	hu-Крипто-L1H2	424	11114	666	11356
gpA33	hu-gpA33	183	10873	hu-gpA33	425	11115	667	11357
ROR1	ROR1-DART4	184	10874	ROR1-DART4	426	11116	668	11358
BCMA	BCMA-BB-CAR02	185	10875	BCMA-BB-CAR02	427	11117	669	11359
CLL1	CLL1-24C8	186	10876	CLL1-24C8	428	11118	670	11360
CLL1	CLL1-24C1	187	10877	CLL1-24C1	429	11119	671	11361
FLT3	FLT3-10E3	188	10878	FLT3-10E3	430	11120	672	11362
FLT3	FLT3-8B5	189	10879	FLT3-8B5	431	11121	673	11363
IL1RAP	IL1RAP-IAPB57	190	10880	IL1RAP-IAPB57	432	11122	674	11364
IL1RAP	IL1RAP-IAPB63	191	10881	IL1RAP-IAPB63	433	11123	675	11365
IL1RAP	hu-IL1RAP-CANO4	192	10882	hu-IL1RAP-CANO4	434	11124	676	11366
MSLN	MSLN-7D9-v3	193	10883	MSLN-7D9-v3	435	11125	677	11367

MSLN	MSLN-hu22A10	194	10884	MSLN-hu22A10	436	11126	678	11368
BST1	hu1-A1	195	10885	hu1-A1	437	11127	679	11369
BST1	hu1-A2	196	10886	hu1-A2	438	11128	680	11370
BST1	hu1-A3	197	10887	hu1-A3	439	11129	681	11371
CD19	CAT17-HL	198	10888	CAT17-HL	440	11130	682	11372
CD22	hu-HA22-1	199	10889	hu-HA22-1	441	11131	683	11373
CD70	CD70-HL-AM13	200	10890	CD70-HL-AM13	442	11132	684	11374
BCMA	BCMA-BB-CAR02	201	10891	BCMA-BB-CAR02	443	11133	685	11375
Her2	Her2-169	202	10892	Her2-169	444	11134	686	11376
Her2	Her2-XMT-1520	203	10893	Her2-XMT-1520	445	11135	687	11377
Her2	Her2-XMT-1518	204	10894	Her2-XMT-1518	446	11136	688	11378
Her2	Her2-huMab4D5-D98W	205	10895	Her2-huMab4D5-D98W	447	11137	689	11379
MSLN	MSLN-3-HL-AM	206	10896	MSLN-3-HL-AM	448	11138	690	11380
MSLN	MSLN-5-HL	207	10897	MSLN-5-HL	449	11139	691	11381
EGFRviii	EGFRviii-2-AM-HL	208	10898	EGFRviii-2-AM-HL	450	11140	692	11382
EGFRviii	EGFRviii-H2M1863N2-HL	209	10899	EGFRviii-H2M1863N2-HL	451	11141	693	11383
DLL3	DLL3-AM6-HL	210	10900	DLL3-AM6-HL	452	11142	694	11384
DLL3	DLL3-AM14-HL	211	10901	DLL3-AM14-HL	453	11143	695	11385
Нектин4	Нектин4-66-HL	212	10902	Нектин4-66-HL	454	11144	696	11386
MSLN	MSLN-237-HL	213	10903	MSLN-237-HL	455	11145	697	11387
MSLN	MSLN-HuAM15	214	10904	MSLN-HuAM15	456	11146	698	11388
MSLN	MSLN76923-HL	215	10905	MSLN76923-HL	457	11147	699	11389
PRLR	PRLR-CN	216	10906	PRLR-CN	458	11148	700	11390
EMR2	EMR2-USC2-V4	217	10907	EMR2-USC2-V4	459	11149	701	11391
CEA	CEA-USC1-HL4	218	10908	CEA-USC1-HL4	460	11150	702	11392
Her3	Her3-USC1-HL4	219	10909	Her3-USC1-HL4	461	11151	703	11393

FOLR1	FOLR1- USC1-HL4	220	10910	FOLR1- USC1-HL4	462	11152	704	11394
FOLR1	FOLR1- USC2-HL4	221	10911	FOLR1- USC2-HL4	463	11153	705	11395
CLDN6	CLDN6- USC1-LH4	222	10912	CLDN6- USC1-LH4	464	11154	706	11396
CLDN6	CLDN6- USC2-LH4	223	10913	CLDN6- USC2-LH4	465	11155	707	11397
SLC34A2	huMX35- LH4	224	10914	huMX35- LH4	466	11156	708	11398
CD22	CD22-INO	225	10915	CD22-INO	467	11157	709	11399
CD22	CD22-hu- RFB4	226	10916	hu-RFB4	468	11158	710	11400
BCMA	BCMA- mJ22-9	227	10917	BCMA- mJ22-9	469	11159	711	11401
CD22	CD22-hu- HA22-2	228	10918	CD22-hu- HA22-2	470	11160	712	11402
CD19	huCD19- USC3	229	10919	huCD19- USC3	471	11161	713	11403
BCMA	BCMA- hu72	230	10920	BCMA- hu72	472	11162	714	11404
MPL/TPO -R	hu-161-3	231	10921	hu-161-3	473	11163	715	11405
BAFFR	hu-BAFFR- USC90	232	10922	hu-BAFFR- USC90	474	11164	716	11406
BAFFR	hu-BAFFR- USC55	233	10923	hu-BAFFR- USC55	475	11165	717	11407
BAFFR	hu-BAFFR- MOR6654	234	10924	hu-BAFFR- MOR6654	476	11166	718	11408
BCMA	BCMA-hu- USC73	235	10925	BCMA-hu- USC73- G32S	477	11167	719	11409
BCMA	BCMA-hu- USC74	236	10926	BCMA- huUSC74- F35Y	478	11168	720	11410
BCMA	BCMA-hu- USC75	237	10927	BCMA- huUSC75- V104T	479	11169	721	11411
BCMA	BCMA-hu- USC76	238	10928	BCMA- huUSC76- I58S	480	11170	722	11412
BCMA	BCMA-hu- USC77	239	10929	BCMA- huUSC77- T59S	481	11171	723	11413
BCMA	BCMA-hu- USC78	240	10930	BCMA- huUSC78- S64G	482	11172	724	11414
BCMA	BCMA-hu- USC79	241	10931	BCMA- huUSC79- S64T	483	11173	725	11415

BCMA	BCMA-hu- USC80- N25K	242	10932	BCMA- huUSC80	484	11174	726	11416
BCMA	BCMA-hu- USC81- I27L	243	10933	BCMA- huUSC81	485	11175	727	11417
BCMA	BCMA-hu- USC82- S29G	244	10934	BCMA- huUSC82	486	11176	728	11418
BCMA	BCMA-hu- USC83- S31T	245	10935	BCMA- huUSC83	487	11177	729	11419
BCMA	BCMA-hu- USC80- N25K	246	10936	BCMA-hu- USC73- G32S	488	11178	730	11420
BCMA	BCMA-hu- USC81- I27L	247	10937	BCMA-hu- USC73- G32S	489	11179	731	11421
BCMA	BCMA-hu- USC82- S29G	248	10938	BCMA-hu- USC73- G32S	490	11180	732	11422
ROR1	ROR1-JJ- 67	249	10939	ROR1-JJ- 67	491	11181	733	11423
ROR1	ROR1-JJ- 78	250	10940	ROR1-JJ- 78	492	11182	734	11424
ROR1	ROR1-JJ- 76	251	10941	ROR1-JJ- 76	493	11183	735	11425
CD20	CD20- ритуксима б	252	10942	CD20- ритуксима б	494	11184	736	11426
Her2	Her2- FRP5-HL	253	10943	Her2-FRP5	495	11185	737	11427
CD19	CEA- huMN14	254	10944	CEA- huMN14	496	11186	738	11428
CEA	CEA- BW431-26	255	10945	CEA- BW431-26	497	11187	739	11429
Her2	Her2- huMab4D5 -H91A	256	10946	Her2- huMab4D5- D98A- F100A- Y102V	498	11188	740	11430
Her2	Her2-USC- 1516	257	10947	Her2-USC- 1516	499	11189	741	11431
TOSO	TOSO- 6B10	258	10948	TOSO- 6B10	500	11190	742	11432
CD30	CD30- HRS3	259	10949	CD30- HRS3	501	11191	743	11433
CD229	CD229- USC1-2D4	260	10950	CD229- USC1-2D4	502	11192	744	11434
CD229	CD229- 2A2	261	10951	CD229-2A2	503	11193	745	11435

CD229	CD229- USC3-2D5	262	10952	CD229- USC3-2D5	504	11194	746	11436
CD229	CD229- USC2-2D4	263	10953	CD229- USC2-2D4	505	11195	747	11437
EBV- gp350	EBV- gp350-7A1	264	10954	EBV- gp350-7A1	506	11196	748	11438
EBV- gp350	EBV- gp350-6G4	265	10955	EBV- gp350-6G4	507	11197	749	11439
INFLUEN ZA-A- Нейрамин идаза	INFL-NA- 1E01	266	10956	INFL-NA- 1E01	508	11198	750	11440
EBV- LMP1	EBV- LMP1- HLEA	267	10957	EBV- LMP1- HLEA	509	11199	751	11441
PSMA	PSMA- J591-ds75	268	10958	PSMA- J591-ds75	510	11200	752	11442
PSMA	hu-PSMA- J591	269	10959	hu-PSMA- J591	511	11201	753	11443
PSMA	hu-PSMA- 2-J591	270	10960	hu-PSMA- 2-J591	512	11202	754	11444
PSMA	hu-PSMA- J591	271	10961	PSMA- J591-ds75	513	11203	755	11445
PSMA	PSMA- J591-ds75	272	10962	hu-PSMA- J591	514	11204	756	11446
MUC1	hu-MUC1- star2-MN- E6	273	10963	hu-MUC1- star2-MN- E6	515	11205	757	11447
MUC1	MUC1- star-MN-E6	274	10964	MUC1-star- MN-E6	516	11206	758	11448
MUC1	hu-MUC1- star-MN- C2	275	10965	hu-MUC1- star-MN-C2	517	11207	759	11449
gpA33	hu-gpA33- C825	276	10966	hu-gpA33- C825	518	11208	760	11450
MSLN	MSLN- 7D10	277	10967	MSLN- 7D10	519	11209	761	11451
MSLN	MSLN- 7D9-HL	278	10968	MSLN- 7D9-HL- Y27F	520	11210	762	11452
MSLN	MSLN- 7D9-HL- V29L	279	10969	MSLN- 7D9-HL	521	11211	763	11453
MSLN	MSLN- hu22A10	280	10970	MSLN- hu22A10- F27Y	522	11212	764	11454
MSLN	MSLN- hu22A10- N31S	281	10971	MSLN- hu22A10	523	11213	765	11455

MSLN	MSLN-hu22A10-Y96W	282	10972	MSLN-hu22A10	524	11214	766	11456
------	-------------------	-----	-------	--------------	-----	-------	-----	-------

Таблица 4

АНТИ-ГЕН-МИШЕНЬ	НАЗВАНИЕ Va/Vd	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	НАЗВАНИЕ Vb/Vg	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
MR1	MC7G5-TCRa-Va	963	11653	MC7G5-TCRa-Vb	964	11654
NY-ESO-1/HLA-A201	NY-ESO-1-IG4-Va	965	11655	NY-ESO-1-IG4-Vb	966	11656
CMV-pp65/HLA-A2	CMV-pp65-TCR1-Va	967	11657	CMV-pp65-TCR1-Vb	968	11658
(E)-4-гидрокси-3-метил-бут-2-энил пиррофосфат (HMB-PP)	TCR-Vd2	969	11659	TCR-Vg9	970	11660
NY-ESO-1/HLA-A02:01	NY-ESO1-svd-TCR	21563	22399			
MAGE-A3-1/HLA-A02:01	MAGE-A3-sVb-7	21564	22400			

Таблица 5

АНТИГЕН-МИШЕНЬ	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CEA и CEA	CD8SP-CEA-300-aVH-G3Sx2-CEA-3001-aVH	816	11506
CEA	CD8SP-CEA-300-aVH	817	11507
CD20 и CD22	CD8SP-CD20-C07-vHH-G4S-CD22-FHVH-158	818	11508
CD20 и CD22	CD8SP-CD20-C07-vHH	819	11509
PSMA и PSMA	CD8SP-PSMA71-chVH-G4Sx3-PSMA28-chVH	820	11510
PSMA	CD8SP-PSMA71-chVH	821	11511
PSMA и PSMA	IgHSP-PSMA28v2-chVH-G4Sx2-PSMA71v2-chVH	822	11512
PSMA	IgHSP-PSMA28v2-chVH	823	11513
CD38	CD8SP-CD38-309407-FHVH	824	11514
CD38 и CD38	IgHSP-CD38-663-FHVH-SG4x2-CD38-986-FHVH	825	11515
CD38	IgHSP-CD38-663-FHVH	826	11516
BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33	827	11517

BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-74	828	11518
CD22 и BCMA	CD8SP-CD22-24-FHVH-G4S-BCMA-93-FHVH	829	11519
PSMA	PSMA71-chVH	830	11520
PSMA	PSMA28-chVH	831	11521
PSMA	PSMA28v2-chVH	832	11522
PSMA	PSMA71v2-chVH	833	11523
CD19	CD19-vHH-048	834	11524
CD20	CD20-vHH-2HCD25	835	11525
CD19	CD19-FHVH-354	836	11526
CD19	CD19-FHVH-635	837	11527
CD19	CD19-USC1-FHVH-355	838	11528
CD19	CD19-USC2-FHVH-636	839	11529
CD20	CD20-vHH-C07	840	11530
CD20	CD20-VHH-USC1	841	11531
CD22	CD22-FHVH-158	842	11532
CD22	CD22-FHVH-24	843	11533
CD22	CD22-USC1-FHVH-160	844	11534
CD38	CD38-FHVH-309407	845	11535
CD38	CD38-FHVH-309201	846	11536
CD38	CD38-FHVH-663	847	11537
CD38	CD38-FHVH-986	848	11538
CD38	CD38-USC1-FHVH-32184	849	11539
CEA	CEA-aVH-300	850	11540
CEA	CEA-aVH-3001	851	11541
BCMA	BCMA-USC1-FHVH-94	852	11542
BCMA	BCMA-USC2-FHVH-95	853	11543
BCMA	BCMA-USC3-FHVH-96	854	11544
BCMA	BCMA-USC4-FHVH-34	855	11545
BCMA	BCMA-FHVH-33	856	11546
BCMA	BCMA-FHVH-74	857	11547
BCMA	BCMA-FHVH-93	858	11548
Muc16	MUC16-VHH-R3MU29	859	11549
Muc16	MUC16-vHH-R3MU5-USC1	860	11550
Muc16	MUC16-USC2-huR3MU30	861	11551
IL13Ra2	IL13Ra2-vHH-USC2-C13	862	11552
IL13Ra2	IL13Ra2-huvHH-USC1-C1	863	11553
Her2	Her2-2D3-vHH	864	11554
Her2	Her2-5F7-vHH	865	11555
Her2	Her2-47D5-vHH	866	11556
Her3	Her3-17B05So-vHH	867	11557
Her3	Her3-21F06-vHH	868	11558
CEA	CEA1-vHH	869	11559
CEA	CEA5-vHH	870	11560
EGFR	EGFR-vHH	871	11561
EGFR	EGFR33-vHH	872	11562

cMet	cMET-171-vHH	873	11563
CXCR4	CXCR4-2-vHH	874	11564
CXCR4	CXCR4-1-vHH	875	11565
MSLN	SD1-vHH	876	11566
MSLN	SD2-vHH	877	11567
альбумин	Alb8-vHH	878	11568
CD123	CD123-1-vHH	879	11569
CD123	CD123-2-vHH	880	11570
IL6R	IL6R-304-vHH	881	11571
EGFR и CEA	EGFR-vHH-GS-CEA1-vHH	882	11572
EGFR и CEA	EGFR33-vHH-GS-CEA5-vHH	883	11573
Her2 и Her2	Her2-5F7-vHH-GS-Линкер-Her2-47D5-vHH	884	11574
Her2 и Her2	Her2-Hu4D5-vL-GS-Линкер-Her2-Hu4D5-vH	885	11575
Her3 и Her2	Her3-17B05So-vHH-GS-Her2-2D3-vHH	886	11576
cMET и Her3	cMET-171-vHH-GS-Her3-21F06-vHH	887	11577
MSLN	SD1-vHH-GS-SD2-vHH	888	11578
BCMA	BCMA-vHH-353	889	11579
BCMA	BCMA-vHH-917	890	11580
BCMA и BCMA	BCMA353--vHH-Gly-Ser-Линкер-BCMA917-vHH	891	11581
CD38	CD38-vHH-717	892	11582
BCMA	BCMA-346-vHH-(BCMA-vHH-346)	893	11583
CD38 и BCMA	CD38-717-vHH-Ecoil-BCMA-346-vHH	894	11584
BCMA	BCMA-vHH-348	895	11585
CD38	CD38-vHH-331	896	11586
BCMA и CD38	BCMA-348-vHH-Ecoil-CD38-331-vHH	897	11587
CD19	CD19-vHH	898	11588
CD20	CD20-vHH	899	11589
CD19 и CD20	CD19-vHH-Gly-Ser-Линкер-CD20-vHH	900	11590
BCMA	BCMA-vHH-948	901	11591
BCMA	BCMA-vHH-972	902	11592

Таблица 6

АНТИГЕН-МИШЕНЬ	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CEA	CEA-300-aVH	954	11644
CEA	CEA-301-aVH	955	11645

Таблица 7

АНТИ-ГЕН-МИ-ШЕНЬ	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	АНТИ-ГЕН-МИ-ШЕНЬ	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
Her2	Her2-дарпин-1	972	11662	PSMA	PSMA-центи-рин-2	978	11668
Her2	Her2-дарпин-2	973	11663	PSMA	PSMA-центи-рин-3	979	11669
Her3	Her3-affi	974	11664	EGFR	EGFR-Центи-рин	980	11670
Her2	Her2-affi	975	11665	cMET	cMET-Центи-рин	981	11671
EGFR	EGFR-affi	976	11666	EGFR и cMET	EGFR-cMET-Cent	982	11672
PSMA	PSMA-центи-рин-1	977	11667	BCMA	BCMA-Центи-рин	983	11673

Таблица 8

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
ACE2-ECD	984	11674
hCD19-Внеклеточный-Домен-минус-сигнальный-пептид	985	11675
hMPL-Внеклеточный-Домен-с-сигнальным-пептидом	986	11676
CD8-SP-PD1-opt-ECD	987	11677
PD1-opt-ECD-минус-сигнальный-пептид	988	11678
PD1-ECD- с-сигнальным-пептидом	989	11679
CTLA4-opt-ECD-с-сигнальным-пептидом	990	11680
NKG2D-ECD-минус-сигнальный-пептид	991	11681
CD4-ECD-с-сигнальным-пептидом	992	11682
DC-SIGN-минус-сигнальный-пептид	993	11683
CD16A-V158-ECD-v1-минус-сигнальный-пептид	994	11684
CD16A-V158-ECD-v2-минус-сигнальный-пептид	995	11685
dc-Авидин-минус-сигнальный-пептид	996	11686
Десмоглеин-3-(Dsg3)-ECD	997	11687
CD8SP-NKG2D	998	11688
CD8SP-NKG2D-GS-NKG2D-(Димер)	999	11689
NKG2D	1000	11690
COVID-19-Шип-gp-RBD	1001	11691

Таблица 9

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
LH-бета-с-сигнальным-пептидом	1002	11692
mTPO(1-187)	1003	11693
CGH-alpha-минус-сигнальный-пептид	1004	11694
CGH-бета-с-сигнальным-пептидом	1005	11695
FSH-бета-минус-сигнальный-пептид	1006	11696
LH-бета-с-сигнальным-пептидом	1007	11697
TSH-бета-с-сигнальным-пептидом	1008	11698
SP-CGHb-Gly-Ser-Линкер-CGHa	1009	11699
CD8SP-FSHb-Gly-Ser-Линкер-CGHa	1010	11700
SP-LHb-Gly-Ser-Линкер-CGHa	1011	11701
SP-TSHb-Gly-Ser-Линкер-CGHa	1012	11702

Таблица 10

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD8SP-BCMA-FHVN93-GS-ULBP2R	1013	11703
RZIP	1014	11704
EZIP	1015	11705
E4	1016	11706
K4	1017	11707
NKG2D-AF	1018	11708
NKG2D-YA	1019	11709
NKG2D-AF-G4Sx3-NKG2D-AF	1020	11710
NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA	1021	11711
ULBP2R	1022	11712
ULBP2-S3	1023	11713
CD8SP-BCMA-FHVN93-GS-ULBP2-S3	1041	11731

Таблица 11. Примерные линкеры

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
G4Sx3	1024	11714
G4S	1025	11715
G3Sx2	1026	11716
G4Sx2	1027	11717
G4Sx3	1028	11718
Мус-(P)-TAG	1029	11719
MYC2-TAG	1030	11720
MYC4-TAG	1031	11721
V5-TAG	1032	11722
HA-TAG	1033	11723
HIS-TAG	1034	11724
AVI-TAG-дельта-GSG	1035	11725

G4Sx2-TAG	1036	11726
G4Sx2-TAG	1037	11727
StrepTagII	1038	11728
StrepTagII	1039	11729
FLAG-TAG	1040	11730
G4Sx3	1041	11731

Таблица 12

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
hTCR-альфа-константная	1042	11732
hTCRa-WT	1043	11733
hTCRa-CSDVP	1044	11734
hTCRa-opt2	1045	11735
hTCRa-opt3	1046	11736
hTCRa-T48C-opt (или hTCRa-T48C или hTCR α -T48C)	1047	11737
hTCRa-T48C-opt1	1048	11738
hTCRa-SDVP	1049	11739
hTCRa-S61R	1050	11740
hTCRa-SDVPR	1051	11741
hTCRa-SD	1052	11742
hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2	1053	11743
mTCRa-opt	1054	11744
caninetc.Ra-opt (сTCRa-opt)	1055	11745
hTCR-b1-константная-область	1056	11746
hTCR-b2-константная-область	1057	11747
hTCRb-WT	1058	11748
hTCRb-S57C-opt1	1059	11749
hTCRb-KAIAH	1060	11750
hTCRb-opt2	1061	11751
hTCRb-opt2-deltaE	1062	11752
hTCRb-opt3	1063	11753
hTCRb-opt4	1064	11754
hTCRb-KAIAH	1065	11755
hTCRb-K18A22	1066	11756
hTCRb-K18I133	1067	11757
hTCRb-K18A136	1068	11758
hTCRb-K18H139	1069	11759
hTCRb-R18A22	1070	11760
hTCRb-R18	1071	11761
hTCRb-KAIAHG	1072	11762
hTCRb-KAG	1073	11763
hTCRb-R79G	1074	11764
mTCRb-opt	1075	11765
caninetc.Rb-opt (сTCRb-opt)	1076	11766

hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt	1077	11767
<i>pretc.Ra_gb_U38996.1</i>	1078	11768
<i>pretc.Ra</i>	1079	11769
<i>pretc.Ra-del48</i>	1080	11770
hTCR-гамма	1081	11771
hTCR-Гамма-Opt	1082	11772
hTCR-Дельта	1083	11773
hTCR-Дельта -Opt	1084	11774
hTCRa-opt2-Del	1085	11775
hTCRb-RC	1086	11776
hTCRb-RAC	1087	11777
CD3zECDTM-opt	1088	11778
CD3zECDTMCP-opt	1089	11779
CD3zECDTM-28z-opt	1099	11789
CD3zECDTM-BBz-opt	1100	11790
CD3zECDTM-28z-opt2	1101	11791
CD3zECDTM-BBz-opt2	1102	11792
hTCRa-T48C-opt-d4	1103	11793
hTCRa-T48C-opt-d6	1104	11794
hTCRa-T48C-opt-d10	1105	11795
hTCRa-T48C-opt-d13	1106	11796
hTCRa-T48C-opt-d17	1107	11797
hTCRa-T48C-opt-d26	1108	11798
hTCRa-T48C-opt-d32	1109	11799
hTCRa-T48C-opt-d46	1110	11800
hTCRa-wt2-opt-d52	1111	11801
TCRa-wt2-opt-6MD	1112	11802
TCRa-wt2-opt-7MD	1113	11803
hTCRb-S57C-opt1 (или hTCRb-S57C или hTCRβ-S57C)	1114	11804
hTCRb-S57C-opt1-d2 (hTCRb-d2)	1115	11805
hTCRb-S57C-opt1-d4 (hTCRb-d4)	1116	11806
hTCRb-S57C-opt1-d6 (hTCRb-d6)	1117	11807
hTCRb-S57C-opt1-d9 (hTCRb-d9)	1118	11808
hTCRb-S57C-opt1-d14 (hTCRb-d14)	1119	11809
hTCRb-S57C-opt1-d17 (hTCRb-d17)	1120	11810
hTCRb-S57C-opt1-d29 (hTCRb-d29)	1121	11811
hTCRb-S57C-opt1-d41(hTCRb-d41)	1122	11812
hTCRb-S57C-opt1-d50 (hTCRb-d50)	1123	11813
hTCRb-S57C-opt1-d55 (hTCRb-d55)	1124	11814
hTCRb-S57C-opt1-d63 (hTCRb-d63)	1125	11815
TCRb-wt2-opt-6MD	1126	11816
TCRb-wt2-opt-7MD	1127	11817
hTCRg-Opt	1128	11818
hTCRg-Opt-d5	1129	11819
hTCRg-Opt-d7	1130	11820

hTCRg-Opt-d12	1131	11821
TCRg-6MD	1132	11822
TCRg-7MD	1133	11823
hTCRd-Opt	1134	11824
hTCRd-opt-d2	1135	11825
hTCRd-opt-d6	1136	11826
hTCRd-opt-d8	1137	11827
hTCRd-opt-d13	1138	11828
TCRd-6MD	1139	11829
TCRd-7MD	1140	11830

Таблица 13: Линкерный домен Ig, полученный из антител и TCR

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
IgCL	1142	11832
IgG1-CH1	1143	11833
IgG1-CH1-ДельтаС	1144	11834
IgG1-CH1-Шарнир	1145	11835
IgG1-CH1-v2	1146	11836
IgG1-CH1-ДельтаС-v2	1147	11837
IgG1-CH1-Шарнир-v2	1148	11838
IgG2-0C-CH1	1149	11839
IgG2-IC-CHI1	1150	11840
IgG3-CHI1	1151	11841
IgG4-CHI1	1152	11842
IgA1-CHI1	1153	11843
IgA2-CHI1	1154	11844
IgD-CHI1	1155	11845
IgE-CHI1	1156	11846
IgM-CHI1	1157	11847
TCRa-wt-opt-6ECD	1158	11848
TCRa-wt-opt-7ECD	1159	11849
TCRb-wt-opt-6ECD	1160	11850
TCRb-wt-opt-ECD-7ECD	1161	11851
TCRg-opt-6ECD	1162	11852
TCRg-opt-7ECD	1163	11853
TCRd-opt-6ECD	1164	11854
TCRd-opt-ECD-7ECD	1165	11855
TCRb-wt-opt-8ECD	1166	11856
TCRa-wt-opt-8ECD	1167	11857
TCRa-Ig-Подобный-C1-Домен-6MD	1168	11858
TCRa-Ig-Подобный-C1-Домен	1169	11859
TCRb-Ig-Подобный-C1-Домен-6MD	1170	11860
TCRb-Ig-Подобный-C1-Домен	1171	11861
TCRg-Ig-Подобный-C1-Домен-6MD	1172	11862
TCRg-Ig-Подобный-C1-Домен	1173	11863

TCRd-Ig-Подобный-C1-Домен	1174	11864
TCRd-Ig-Подобный-C1-Домен-6MD	1175	11865

Таблица 14. Примеры связывающих пептидов

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
TCRa-Соединительный-Пептид-MD	1177	11867
TCRa-Соединительный-Пептид	1178	11868
TCRb-Соединительный-Пептид-MD	1179	11869
TCRb-Соединительный-Пептид	1180	11870
TCRg-Соединительный-Пептид-MD	1181	11871
TCRg-Соединительный-Пептид	1182	11872
TCRd-Соединительный-Пептид-MD	1183	11873
TCRd-Соединительный-Пептид	1184	11874
CD3z-Соединительный-Пептид	1185	11875

Таблица 15. Примеры трансмембранных доменов TCR

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
TCRa-Трансмембранный-Домен	1187	11877
TCRb-Трансмембранный-Домен	1188	11878
TCRg-Трансмембранный-Домен	1189	11879
TCRd-Трансмембранный-Домен	1190	11880
CD3z-Трансмембранный-Домен	1191	11881

Таблица 16. Цитозольные домены TCR

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
TCRa-Цитозольный-Домен	1193	11883
TCRb-Цитозольный-Домен	1194	11884
TCRg-Цитозольный-Домен	1195	11885
CD3z-Цитозольный-Домен	1196	11886

Таблица 17

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
IgG1-Шарнир	1198	11888
IgG2-Шарнир	1199	11889
IgG1-CD28-спейсер	1200	11890
IgG1-4-1BB-спейсер	1201	11891
IgG4-(Hi-CH2-CH3)-спейсер	1202	11892
IgG4-(Hi-CH3)-спейсер	1203	11893
IgG4(Hi)-спейсер	1204	11894

Таблица 18. Прочие домены

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD3z-Цитозольный-Домен	1206	11896	CD3zECDTM-opt2	1094	11784
CD3z-Цитозольный-Домен	1207	11897	CD3zCP-opt2	1095	11785
4-1BB-Цитозольный-Домен	1208	11898	CD3zECDTMCP-opt2	1096	11786
hCD8-Шарнир-TM	1209	11899	CD28-CP-opt2	1097	11787
hCD8-Шарнир-TM-BBz	1210	11900	41BB-CP-opt2	1098	11788
hCD8TM-Шарнир-BB	1211	11901	CD3e-ECD-opt2	23320	23329
CD28-ШарнирTMCP	1212	11902	CD3d-ECD-opt2	23321	23330
CD3d-ECDTMCP-opt2	1213	11903	CD3g-ECD-opt2	23322	23331
CD3eECDTMCP-opt2	1214	11904	CD3e-TM-opt2	23323	23332
CD3g-ECDTMCP-opt2	1215	11905	CD3d-TM-opt2	23324	23333
CD3zECDTMCP-opt2	1216	11906	CD3g-TM-opt2	23325	23334
CD3zECDTMCP-opt	1090	11780	CD3e-CP-opt2	23326	23335
CD28-CP-opt	1091	11781	CD3d-CP-opt2	23327	23336
41BB-CP-opt	1092	11782	CD3g-CP-opt2	23328	23337
CD3e-CP-opt	1093	11783			

Таблица 19. Линкеры, расщепляемые протеазой

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
MMP14	1218	11908
MMP14	1219	11909
MMP14	1220	11910
MMP2-или-MMP9	1221	11911
MMP2-или-MMP9	1222	11912
MMP1-или-MMP8	1223	11913
MMP1-или-MMP8	1224	11914
MMP1-или-MMP8	1225	11915
MMP1-или-MMP8	1226	11916
MMP3	1227	11917
MMP3	1228	11918
MMP7	1229	11919
MMP7	1230	11920
MMP9	1231	11921

Таблица 20. Саморасщепляемые линкеры

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
F2A	1233	11923
T2A	1234	11924
T2A	1235	11925
P2A	1236	11926
P2a-вариант	1237	11927
E2A	1238	11928
SGSG	1239	11929
SGSG	1240	11930
САЙТ-РАСЩЕПЛЕНИЯ-ФУРИНОМ	1241	11931
САЙТ-РАСЩЕПЛЕНИЯ-ФУРИНОМ	1242	11932
САЙТ-РАСЩЕПЛЕНИЯ-ФУРИНОМ	1243	11933

Таблица 21. scFv-Nluc (реагенты Malibu Glo)

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD8SP-FMC63-(vL-vH)-GGSG-NLuc-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1245	11935
CD8SP-huFMC63-11-(vL-vH)-GGSG-NLuc-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1246	11936
CD8SP-BCMA-J6M0-(vL-vH)-GGSG-NLuc-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1247	11937
CD8SP-BCMA-huC12A3-L3H3-(vL-vH)-GGSG-NLuc-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1248	11938
CD8SP-CD20-2F2-(vL-vH)-GGSG-NLuc-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1249	11939

Таблица 22. SVH-N-Luc

Мишень	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CEA	CD8SP-CEA-300-aVH-G3Sx2-CEA-3001-aVH-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1265	11955
CEA	CD8SP-CEA-300-aVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1266	11956
CD20	CD8SP-CD20-C07-vHH-G4S-CD22-FHVH-158-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1267	11957
CD20	CD8SP-CD20-C07-VH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1268	11958
PSMA	CD8SP-PSMA71-chVH-G4Sx3-PSMA28-chVH-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1269	11959
PSMA	CD8SP-PSMA71-chVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1270	11960

PSMA	IgHSP-PSMA28v2-chVH-G4Sx2-PSMA71v2-chVH-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1271	11961
PSMA	IgHSP-PSMA28v2-chVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1272	11962
CD38	CD8SP-CD38-309407-FHVVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1273	11963
CD38	IgHSP-CD38-663-FHVVH-SG4x2-CD38-986-FHVVH-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1274	11964
CD38	IgHSP-CD38-663-FHVVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1275	11965
BCMA	CD8SP-BCMA-33-FHVVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1276	11966
BCMA	CD8SP-BCMA-74-FHVVH-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1277	11967
CD22	CD8SP-CD22-24-FHVVH-G4S1-BCMA-93-FHVVH-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1278	11968

Таблица 23. Внеклеточный домен-Nluc (ECD-Nluc)

Антиген	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
MPL	MPL-ECD-GGSG-Nluc-AcV5	1280	11970
CD19	FLAG-CD19-ECD-GGSG-NLuc-AcV5	1281	11971
CD19	CD19-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1282	11972
CD33	CD33-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1283	11973
CD33	CD33-ECD-GGSG-Tluc16-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1284	11974
CD33	CD33-ECD-PaLuc1-HA-Streptag-3xHA-8xHis-T2A-pac	1285	11975
CD33	CD33-ECD-Htanneri-Luc-x3Flag	1286	11976
CD138	CD138-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1287	11977
CD123	CD123-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1288	11978
CDH1	CDH1-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1289	11979
CD200R	CD200R-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1290	11980
GPNMB	GPNMB-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1291	11981
PTK7	PTK7-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1292	11982
CD34	CD34-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1293	11983
EpCAM	EpCAM-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1294	11984
CLEC12A	CLEC12A-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1295	11985

CD20	CD20-ECx2-ECD-GGSG-TLuc16-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1296	11986
CD20	CD20-ECx1-ECD-GGSG-TurboLuc16-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1297	11987
CD22	CD22v5-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1298	11988
TSHR	TSHR-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1299	11989
EGFRviii	EGFRviii-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1300	11990
SLAMF7	SLAMF7-CS1-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1301	11991
PD1	PD1-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1302	11992
CTLA4	CTLA4-opt-ECD-NLuc-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1303	11993
NKG2D	CD8SP-NKG2D-ECD-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1304	11994
PSMA	CD8SP-PSMA-ECD-4xFLAG-x2STREP-8xHis-T2A-PAC	1305	11995
BCMA	CD8SP-BCMA-ECD-GGSG-NLuc-4xFlag-2xStreptag-8xHis-T2A-Pac	1306	11996

Таблица 24. Терапевтический контроль

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
PuroR_Вариант-(PAC)	1308	11998
BlastR	1309	11999
CNB30	1310	12000
GMCSF-SP-tEGFR	1311	12001
tEGFRviii	1312	12002
tCD19	1313	12003
tBCMA	1314	12004
K13	1315	12005
MC159	1316	12006
K13-opt	1317	12007
икаспаза-9	1318	12008
IGHSP2-IL6R-304-VHH-ALB8-VHH	1319	12009
CD8SP2-PD1-4H1-scFv	1320	12010
CD8SP2-PD1-5C4-scFv	1321	12011
CD8SP2-CTLA4-ипилимумаб-scFv	1322	12012
CD8SP2-PD1-4H1-Alb8-vHH	1323	12013
CD8SP2-PD1-5C4-Alb8-vHH	1324	12014
CD8SP2-CTLA4-ипилимумаб-Alb8-vHH	1325	12015
IgSP-IL6-19A-scFV	1326	12016
IgSP-Fx06	1327	12017

FKBP-K13	1328	12018
FKBPX2-K13	1329	12019

Таблица 25. Биспецифичные конструкции SIR, нацеленные на CD19 и второй антиген, на который нацелен SIR

МИ-ШЕНЬ SIR	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FMC63-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1849	12539
CD19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-huFMC63-11-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-huFMC63-11-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1850	12540
CD19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19Bu12-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD19Bu12-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1851	12541
HIV1-gp100	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HIV1-N6-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HIV1-N6-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1852	12542
ALK	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Alk-48-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Alk-48-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1853	12543
ALK	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Alk-58-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Alk-58-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1854	12544
CD45	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BC8-CD45-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BC8-CD45-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1855	12545
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-J6M0-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-J6M0-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1856	12546
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-huC12A3-L3H3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-huC12A3-L3H3-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1857	12547
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-ET-40-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-ET-40-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1858	12548
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-ET-54-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-ET-54-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1859	12549
CCR4	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CCR4-humAb1567-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CCR4-humAb1567-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1860	12550
CD5	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD5-9-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD5-9-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1861	12551
CD5	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD5-18-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD5-18-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1862	12552
CD20	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD20-2F2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD20-2F2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1863	12553
CD20	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD20-GA101-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD20-GA101-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1864	12554
CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-h10F4v2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-h10F4v2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1865	12555

CD276	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-m971-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-m971-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1866	12556
CD30	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD30-5F11-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD30-5F11-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1867	12557
CD30	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD30-Ac10-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD30-Ac10-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1868	12558
CD32	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD32-Med9-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD32-Med9-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1869	12559
CD33	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD33-AF5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD33-AF5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1870	12560
CD33	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD33-huMyc9-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD33-huMyc9-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1871	12561
CD34	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD34-hu4C7-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD34-hu4C7-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1872	12562
CD44v6	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD44v6-Biwa8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD44v6-Biwa8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1873	12563
CD70	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD70-h1F6-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD70-h1F6-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1874	12564
CD79b	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD79b-2F2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD79b-2F2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1875	12565
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-CSL362-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-CSL362-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1876	12566
CD138	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD138-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD138-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1877	12567
CD179b	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD179b-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD179b-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1878	12568
CD276	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD276-17-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD276-17-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1879	12569
CD324	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD324-SC10-6-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD324-SC10-6-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1880	12570
CD324	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD324-hSC10-17-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD324-hSC10-17-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1881	12571
CDH6	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CDH6-NOV710-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CDH6-NOV710-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1882	12572
CDH6	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CDH6-NOV712-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CDH6-NOV712-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1883	12573
CDH17	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CDH17-PTA001A4-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CDH17-PTA001A4-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1884	12574
CDH19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CDH19-16A4-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CDH19-16A4-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1885	12575
EGFR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Цетуксимаб-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Цетуксимаб-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1886	12576
CLEC5A	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLEC5A-8H8F5-vL-	1887	12577

	[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLEC5A-8H8F5-vH-[hTCRa-T48C-opt]		
CLEC5A	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLEC5A-3E12A2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLEC5A-3E12A2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1888	12578
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-M26-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-M26-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1889	12579
CSF2RA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-M32-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-M32-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1890	12580
CS1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HuLuc64-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HuLuc64-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1891	12581
CS1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CS1-huLuc90-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-huLuc90-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1892	12582
CSF2RA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CSF2RA-Ab6-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CSF2RA-Ab6-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1893	12583
CSF2RA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CSF2RA-Ab1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CSF2RA-Ab1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1894	12584
EGFRviii	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-EGFRvIII-139-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-EGFRvIII-139-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1895	12585
EGFRviii	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-EGFRvIII-2173-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-EGFRvIII-2173-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1896	12586
EpCAM	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Epcam1-MM1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Epcam1-MM1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1897	12587
EpCAM	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Epcam1-D5K5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Epcam1-D5K5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1898	12588
FLT3	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FLT3-NC7-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FLT3-NC7-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1899	12589
Фолатный рецептор-1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FR1-huMov19-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FR1-huMov19-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1900	12590
GD2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GD2-hu14-18-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GD2-hu14-18-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1901	12591
GD2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GD2-hu3F8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GD2-hu3F8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1902	12592
GD3	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GD3-KM-641-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GD3-KM-641-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1903	12593
GFR4	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GFR-альфа4-P4-6-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GFR-альфа4-P4-6-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1904	12594
GFR4	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GFRa4-P4-10-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GFRa4-P4-10-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1905	12595
GM1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GM1-5B2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GM1-5B2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1906	12596
GM1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GM1-7E5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GM1-7E5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1907	12597

GRPC5D	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GRPC5D-ET150-5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GRPC5D-ET150-5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1908	12598
GRPC5D	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GRPC5D-ET150-18-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GRPC5D-ET150-18-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1909	12599
GPC3	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GPC3-4E5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GPC3-4E5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1910	12600
gpNMB	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-gpNMB-115-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-gpNMB-115-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1911	12601
GRP78	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GRP78-GC18-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GRP78-GC18-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1912	12602
Her2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Her2-Hu4D5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Her2-Hu4D5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1913	12603
HIV1-gp100	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HIV1-E5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HIV1-E5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1914	12604
HIV1-gp100	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HIV1-3BNC117-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HIV1-3BNC117-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1915	12605
HIV1-gp100	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HIV1-PGT-128-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1916	12606
HIV1-gp100	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HIV1-VR-C01-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HIV1-VR-C01-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1917	12607
HIV1-gp100	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HIV1-X5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HIV1-X5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1918	12608
IL11Ra	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-IL11Ra-8E2-Ts107-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-IL11Ra-8E2-Ts107-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1919	12609
IL13Ra2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-IL13Ra2-hu107-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-IL13Ra2-hu107vH-[hTCRa-T48C-opt]	1920	12610
IL13Ra2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-IL13Ra2-Hu108-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-IL13Ra2-Hu108-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1921	12611
LAMP1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-LAMP1-humab1-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-LAMP1-humab1-2vH-[hTCRa-T48C-opt]	1922	12612
LAMP1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-LAMP1-Mb4-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-LAMP1-Mb4-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1923	12613
L1CAM	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-L1CAM-9-3-HU3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-L1CAM-9-3-HU3-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1924	12614
Lym1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Lym1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Lym1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1925	12615

Lym2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Lym2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Lym2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1926	12616
MPL/TPO-R	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MPL-175-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-175-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1927	12617
MPL/TPO-R	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MPL-161-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-161-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1928	12618
TCRB1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TCRB1-CP01-E09-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TCRB1-CP01-E09-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1929	12619
TCRB1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TCRB1-Jovi1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TCRB1-Jovi1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1930	12620
TCRB2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TCRB2-CP01-D05-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TCRB2-CP01-D05-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1931	12621
TCRB2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TCRB2-CP01-E05-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TCRB2-CP01-E05-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1932	12622
TCRgd	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TCRgd-G5-4-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TCRgd-G5-4-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1933	12623
TGFBR2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TGFBR2-Ab1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TGFBR2-Ab1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1934	12624
TIM1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TIM1-HVCR1-270-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TIM1-HVCR1-270-2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1935	12625
TIM1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TIM1-HVCR1-ARD5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TIM1-HVCR1-ARD5vH-[hTCRa-T48C-opt]	1936	12626
TnAg	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TnAg-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TnAg-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1937	12627
Tn-Muc1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TnMuc1-hu5E5-RHA8-RKA-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TnMuc1-hu5E5-RHA8-RKA-2vH-[hTCRa-T48C-opt]	1938	12628
TROP2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TROP2-ARA47-HV3KV3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TROP2-ARA47-HV3KV3-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1939	12629
TROP2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TROP2-h7E6-SVG-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TROP2-h7E6-SVG-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1940	12630
TSLPR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-TSLPR-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-TSLPR-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1941	12631
Тирозиназа	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Tyros-B2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Tyros-B2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1942	12632
Тирозиназа	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Tyros-MC1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Tyros-MC1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1943	12633
VGFR3	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-VEGFR3-Ab1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-VEGFR3-Ab1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1944	12634

WT1/HLA-A2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-WT1-Ab5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-WT1-Ab5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1945	12635
WT1/HLA-A2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MYC3-WT1-Ab13-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-WT1-Ab13-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1946	12636
WT1/HLA-A2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MYC3-WT1-Ab15-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-WT1-Ab15-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1947	12637
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-1172-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-1172-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1948	12638
CDH19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CDH19-4B10-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CDH19-4B10-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1949	12639
Фолатный рецептор-бета	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FR-бета-m923-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FR-бета-m923-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1950	12640
LHR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-LHR-8B7-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-LHR-8B7-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1951	12641
LHR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-LHR-5F4-21-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-LHR-5F4-21-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1952	12642
B7H4	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-B7H4-hu22C10-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-B7H4-hu22C10-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1953	12643
B7H4	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-B7H4-hu1D11-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-B7H4-hu1D11-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1954	12644
CD23	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD23-p5E8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD23-p5E8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1955	12645
GCC	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GCC-5F9-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GCC-5F9-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1956	12646
GCC	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-GCC-Ab229-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-GCC-Ab229-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1957	12647
CD200R	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD200R-huDx182-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD200R-huDx182-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1958	12648
AFP	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-AFP-76-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-AFP-76-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1959	12649
AFP	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-AFP-79-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-AFP-79-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1960	12650
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-ET-03-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-ET-03-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1961	12651
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-DART-1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-DART-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1962	12652
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-DART-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-DART-2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1963	12653
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-1176-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-1176-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1964	12654
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-2B8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-2B8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1965	12655

CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-9D7-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-9D7-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1966	12656
CD123	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD123-3B10-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD123-3B10-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1967	12657
CD19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-MOR0028-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD19-MOR0028-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1968	12658
CD19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1969	12659
CD20	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD20-Ubli-v4-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD20-Ubli-v4-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1970	12660
CD20	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD20-7D8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD20-7D8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1971	12661
CD33	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD33-SGNh2H12-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD33-SGNh2H12-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1972	12662
CD99	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD99-hu12E7-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD99-hu12E7-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1973	12663
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-21C9-L2H3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-21C9-L2H3-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1974	12664
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-6E7L4H1e-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-6E7L4H1e-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1975	12665
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-hu1075-v1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-hu1075-v1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1976	12666
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-hu1075-v2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-hu1075-v2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1977	12667
FITC	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FITC-4M-53-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FITC-4M-53-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1978	12668
FITC	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FITC-E2-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FITC-E2-vL-[hTCRa-T48C-opt]	1979	12669
HLA-A2	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HLA-A2-3PB2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HLA-A2-3PB2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1980	12670
HPV16	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HPV16-7-8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HPV16-7-8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1981	12671
HPV16	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-HPV16-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-HPV16-2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1982	12672
CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-5-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-5-vL-[hTCRa-T48C-opt]	1983	12673
CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-10-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-10-vL-[hTCRa-T48C-opt]	1984	12674
CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-31-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-31-vL-[hTCRa-T48C-opt]	1985	12675

CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-53-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-53-vL-[hTCRa-T48C-opt]	1986	12676
CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-65-vH-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-65-vL-[hTCRa-T48C-opt]	1987	12677
Легкая цепь каппа	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Kappa-LC1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Kappa-LC1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1988	12678
PTK7	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-PTK7-7C8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-PTK7-7C8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1989	12679
PTK7	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-PTK7-12C6a-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-PTK7-12C6a-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1990	12680
CD19	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-hCD19-EUK5-13-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-hCD19-EUK5-13-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1991	12681
Streptag	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-Streptag-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Streptag-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1992	12682
MPL	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MPL-hu-161-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-MPL-hu-161-2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1993	12683
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-huC12A3-L3H3-vL2-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-huC12A3-L3H3-vH2-[hTCRa-T48C-opt]	1994	12684
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-huC13-F12-L1H2-vL2-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-huC13-F12-L1H2-vH2-[hTCRa-T48C-opt]	1995	12685
CD179a	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD179a-2460-B04-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD179a-2460-B04-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1996	12686
CD179a	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD179a-2462-E07-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD179a-2462-E07-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1997	12687
MPL	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MPL-hu-175-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-MPL-hu-175-2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1998	12688
MPL	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MPL-hu-111-2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-MPL-hu-111-2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1999	12689
CD22	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD22-HA22-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-HA22-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2000	12690
STEAP1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-STEAP1-hu120-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-STEAP1-hu120-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2001	12691
hLiv1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-hLiv1-mAb2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-hLiv1-mAb2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2002	12692
Нектин4	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-hu-Нектин4-mAb1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-hu-Нектин4-mAb1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2003	12693
Крипто	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-hu-Крипто-L1H2-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-hu-Крипто-L1H2-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2004	12694

gpA33	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-hu-gpA33-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-hu-gpA33-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2005	12695
ROR1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-ROR1-DART4-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-ROR1-DART4-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2006	12696
FLT3	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FLT3-8B5-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FLT3-8B5-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2007	12697
FLT3	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FLT3-10E3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FLT3-10E3-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2008	12698
BCMA	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-BCMA-BB-CAR02-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-BCMA-BB-CAR02-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2009	12699
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-24C1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-24C1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2010	12700
CLL1	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CLL1-24C8-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CLL1-24C8-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2011	12701
MSLN	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MSLN-7D9-v3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-MSLN-7D9-v3-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2012	12702
MSLN	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-MSLN-hu22A10-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2013	12703

Таблица 26. Биспецифичные и триспецифичные конструкции на разных каркасах, нацеленных на разные антигены. Эти конструкции были созданы путем замены модулей [hTCRb-S57C-opt] и [hTCRa-T48C-opt] конструкции в таблице 25 модулями, показанными в первой конструкции каждой серии в таблице ниже. Порядок фрагментов vL/vH конструкций каждой серии в Таблице 26 такой же, как порядок цепей vL/vH конструкций серии 1, подробные сведения о которых представлены в Таблице 25.

Таблица 26. Биспецифичные и триспецифичные конструкции, нацеленные на разные антигены						
1^я мишень	2^я мишень	3^я мишень	Тип конструкции	Название первой конструкции в серии	SEQ ID NO Серии (DNA)	SEQ ID NO Серии (PRT)
Вариабельная	CD19	Нет	Биспецифичная	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-FMC63-vH-[hTCRa-T48C-opt]	1849-2013	12539-12703
Вариабельная	CD19	Нет	Биспецифичная	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-FMC63-vH-[hTCRb-S57C]	2014-2177	12704-12868

Вариабельная	CD19	Нет	Биспецифическая	CD8SP-CD19-FHVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-FMC63-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	2178-2343	12869-13033
Вариабельная	CD19	CD22	Триспецифическая	CD8SP-CD19-FHVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-FHVH-24-FMC63-vH-[hTCRa-T48C-opt]	2344-2508	13034-13198
Вариабельная	CD19	CD22	Триспецифическая	CD8SP-CD19-FHVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-CD22-FHVH-24-FMC63-vH-[hTCRb-S57C]	2509-2673	13199-13363
Вариабельная	CD19	CD22	Триспецифическая	CD8SP-CD19-FHVH-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-CD22-FHVH-24-FMC63-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	2674-2838	13364-13528
Вариабельная	CD19	Нет	Биспецифическая	CD8SP-CD19-FHVH-354-G4S3-FMC63-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-FMC63-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	2839-3003	13529-13693
Вариабельная	CD19	CD22	Триспецифическая	CD8SP-CD19-FHVH-354-G4S3-FMC63-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-FHVH-24-FMC63-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	3004-3168	13694-13858

Варианбельная	CD19	Нет	Биспецифическая	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FMC63-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-F2A-SP-FMC63-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	3169-3333	13859-14023
Варианбельная	CD19	CD22	Триспецифическая	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-FMC63-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-F2A-SP-CD22-FHVVH-24-FMC63-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	3334-3498	14024-14188

Таблица 27. Биспецифичные и триспецифичные SAR-конструкции, нацеленные на MIR1 и необязательно нацеленные на CD20 и/или CD19

1я (TCR) мишень	2я мишень	3я мишень КАРКАС		SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
MIR1		CD20	2nd GEN CAR	3499	14189
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3500	14190
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3501	14191
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3502	14192
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3503	14193
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3504	14194
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3505	14195
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3506	14196
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3507	14197
MIR1		CD20	альфа-бета-TCR	3508	14198
MIR1		CD20	гамма-дельта-TCR	3509	14199
MIR1		CD20	гамма-дельта-TCR	3510	14200
MIR1		CD20	zSIR	3511	14201
MIR1		CD20	SIR	3512	14202
MIR1		CD20	SIR	3513	14203
MIR1		CD20	SIR с одним CD28 CSD	3514	14204
MIR1		CD20	SIR с двумя CD28 CSD	3515	14205
MIR1		CD20	SIR с одним 4-1BB CSD	3516	14206
MIR1		CD20	zSIR с двумя 4-1BB CSD	3517	14207
MIR1		CD20	zSIR	3518	14208
MIR1		CD20	Гамма-дельта Ab-TCR	3519	14209
MIR1		CD20	альфа-бета Ab-TCR	3520	14210
MIR1		CD20	альфа-бета Ab-TCR	3521	14211
MIR1		CD20	TFPe	3522	14212

MIR1		CD20	TFPd	3523	14213
MIR1		CD20	TFPg	3524	14214
MIR1		CD20	TFPz	3525	14215
MIR1		CD20	Одноцепочечный TCR	3526	14216
MIR1		CD20	Одноцепочечный TCR	3527	14217
MIR1		CD20	Одноцепочечный TCR	3528	14218
MIR1		CD20	Одноцепочечный TCR	3529	14219
MIR1	CD19		2nd GEN CAR	3530	14220
MIR1	CD19		2nd GEN CAR	3531	14221
MIR1	CD19		vFLIP-CAR	3532	14222
MIR1	CD19		TCR	3533	14223
MIR1	CD19		TCR	3534	14224
MIR1	CD19		TCR	3535	14225
MIR1	CD19		TCR	3536	14226
MIR1	CD19		TCR	3537	14227
MIR1	CD19		TCR	3538	14228
MIR1	CD19		TCR	3539	14229
MIR1	CD19		TCR	3540	14230
MIR1	CD19		TCR	3541	14231
MIR1	CD19		TCR	3542	14232
MIR1	CD19		TCR	3543	14233
MIR1	CD19		TCR	3544	14234
MIR1	CD19		TCR	3545	14235
MIR1	CD19		TCR	3546	14236
MIR1	CD19		zSIR	3547	14237
MIR1	CD19		SIR	3548	14238
MIR1	CD19		SIR	3549	14239
MIR1	CD19		SIR	3550	14240
MIR1	CD19		SIR	3551	14241
MIR1	CD19		SIR	3552	14242
MIR1	CD19		SIR	3553	14243
MIR1	CD19		zSIR	3554	14244
MIR1	CD19		гамма-дельта Ab-TCR	3555	14245
MIR1	CD19		Альфа-бета Ab-TCR	3556	14246
MIR1	CD19		Альфа-бета Ab-TCR	3557	14247
MIR1	CD19		TFPe	3558	14248
MIR1	CD19		TFPd	3559	14249
MIR1	CD19		TFPg	3560	14250
MIR1	CD19		TFPz	3561	14251
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3562	14252
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3563	14253
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3564	14254
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3565	14255
MIR1	CD19		Одноцепочечный SIR	3566	14256

MIR1			Одноцепочечный TCR	3567	14257
MIR1			Одноцепочечный TCR	3568	14258
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3569	14259
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3570	14260
MIR1			Одноцепочечный TCR	3571	14261
MIR1			Одноцепочечный TCR	3572	14262
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3573	14263
MIR1	CD19		Одноцепочечный TCR	3574	14264
MIR1	CD19	CD20	TCR	3575	14265
MIR1	CD19	CD20	TCR	3576	14266
MIR1	CD19	CD20	TCR	3577	14267
MIR1	CD19	CD20	TCR	3578	14268
MIR1	CD19	CD20	TCR	3579	14269
MIR1	CD19	CD20	TCR	3580	14270
MIR1	CD19	CD20	TCR	3581	14271
MIR1	CD19	CD20	TCR	3582	14272
MIR1	CD19	CD20	TCR	3583	14273
MIR1	CD19	CD20	TCR	3584	14274
MIR1	CD19	CD20	TCR	3585	14275
MIR1	CD19	CD20	zSIR	3586	14276
MIR1	CD19	CD20	SIR	3587	14277
MIR1	CD19	CD20	SIR	3588	14278
MIR1	CD19	CD20	SIR	3589	14279
MIR1	CD19	CD20	SIR	3590	14280
MIR1	CD19	CD20	SIR	3591	14281
MIR1	CD19	CD20	SIR	3592	14282
MIR1	CD19	CD20	zSIR	3593	14283
MIR1	CD19	CD20	Гамма-дельта Аб-TCR	3594	14284
MIR1	CD19	CD20	альфа-бета Аб-TCR	3595	14285
MIR1	CD19	CD20	альфа-бета Аб-TCR	3596	14286

Таблица 28. Биспецифичные и триспецифичные конструкции на разных каркасах, нацеленных на разные антигены. Эти конструкции были созданы путем замены модуля CD20-vHH-2HCD25 конструкции в таблице 27 модулями, показанными в первой конструкции каждой серии в таблице ниже. Порядок фрагментов vL/vH конструкций каждой серии в Таблице 28 такой же, как порядок цепей vL/vH конструкций серии 1, подробные сведения о которых представлены в Таблице 27.

1я (TCR) мишень	2я мишень (необязательная)	3я мишень (необязательная)	Название первой конструкции в серии	SEQ ID NO серии (DNA)	SEQ ID NO серии (PRT)
MR1	CD19	CD20	IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-MC7G5-Va-Gly-Ser-Линкер-Vb-Мус-CD8TM-BBz	3499-3596	14189-14286
MR1	CD19	CD20	IgSP-NKG2D-G4Sx3-NKG2D-G4Sx3v2-MC7G5-Va-Gly-Ser-Линкер-Vb-Мус-CD8TM-BBz	3597-3694	14287-14384
MR1	CD19	CD20	IgSP-Apa-RZIP-G4Sx3v2-MC7G5-Va-Gly-Ser-Линкер-Vb-Мус-CD8TM-BBz	3695-3792	14385-14482
MR1	CD19	CD20	IgSP-Apa-CD16-V158-v2-G4Sx3v2-MC7G5-Va-Gly-Ser-Линкер-Vb-Мус-CD8TM-BBz	3793-3890	14483-14580
CMV-pp65/HLA-A2	CD19	CD20	IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-CMV-pp65-TCR1-Va-Gly-Ser-Линкер-Vb-Мус-CD8TM-BBz	3891-3988	14581-14678
NYESO-1/HLA-A2	CD19	CD20	IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-NYESO-IG4-Va-Gly-Ser-Линкер-Vb-Мус-CD8TM-BBz	3989-4086	14679-14776

Таблица 29. Конструкции биспецифичных и триспецифичных SAR, нацеленных на CD20 и второй антиген, на который нацелен SIR, на основе фрагментов hu-mROO5-1 vL/vH (т.е. Fv)

1я (SIR) Мишень	2я мишень	3я мишень	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Gly-Ser-Линкер-vL-Мус-CD8TM-BBz	4087	14777
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	4088	14778
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4089	14779
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	4090	14780

CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4091	14781
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4092	14782
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4093	14783
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4094	14784
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4095	14785
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4096	14786
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4097	14787
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4098	14788
CD19	CD20		CD8-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4099	14789
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4100	14790
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4101	14791
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4102	14792
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-	4103	14793

			G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]		
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4104	14794
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4105	14795
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4106	14796
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4107	14797
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	4108	14798
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	4109	14799
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3e-ECDTMCP-opt2	4110	14800
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3d-ECDTMCP-opt2	4111	14801
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3g-ECDTMCP-opt2	4112	14802
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3z-ECDTMCP-opt2	4113	14803
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	4114	14804
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]	4115	14805
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	4116	14806

CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]	4117	14807
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-28z	4118	14808
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-BBz	4119	14809
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	4120	14810
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	4121	14811
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4122	14812
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4123	14813
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4124	14814
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4125	14815
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4126	14816
CD19		CD22	CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4127	14817
CD19		CD22	CD8SP-MYC-[hTCRa-T48C-opt1]-F-F2A-SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-V5-[hTCRb-S57C-opt1]-F-P2A-PAC	4128	14818
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4129	14819
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-	4130	14820

			F2A-PAC		
CD19		CD22	CD8SP-[hTCRb-opt2]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4131	14821
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4132	14822
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4133	14823
CD19		CD22	CD8SP-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4134	14824
CD19		CD22	CD8-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4135	14825
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4136	14826
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4137	14827
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4138	14828
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4139	14829
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4140	14830

CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4141	14831
CD19		CD22	CD8-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4142	14832
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4143	14833
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	4144	14834
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	4145	14835
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3e-ECDTMCP-opt2	4146	14836
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3d-ECDTMCP-opt2	4147	14837
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3g-ECDTMCP-opt2	4148	14838
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3z-ECDTMCP-opt2	4149	14839
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4150	14840
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-opt2]-F-F2A-PAC	4151	14841
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4152	14842
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-PAC	4153	14843
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]	4154	14844
CD19		CD22	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	4155	14845
CD19		CD22	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]	4156	14846
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PAC	4157	14847

CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]	4158	14848
CD19			IgHSP-hu-mROO5-1-vH-Мyc-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	4159	14849
CD19			IgHSP-hu-mROO5-1-vH-Мyc-[hTCRa-T48C-opt]	4160	14850
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-SDVP]-F-F2A-PAC	4161	14851
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-КАИАH]-F-P2A-PAC	4162	14852
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-PAC	4163	14853
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4164	14854
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	4165	14855
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4166	14856
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4167	14857
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4168	14858
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4169	14859
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4170	14860

CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4171	14861
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4172	14862
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4173	14863
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4174	14864
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4175	14865
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4176	14866
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4177	14867
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4178	14868
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4179	14869

CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4180	14870
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4181	14871
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4182	14872
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	4183	14873
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	4184	14874
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4185	14875
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	4186	14876
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4187	14877
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]	4188	14878
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4189	14879
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4190	14880
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4191	14881

	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	4192	14882
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	4193	14883
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4194	14884
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4195	14885
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4196	14886
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]	4197	14887
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4198	14888
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4199	14889
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4200	14890
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	4201	14891
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	4202	14892
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4203	14893
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4204	14894
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4205	14895
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-	4206	14896

			VHH-GS-[TCRd-7MD]		
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4207	14897
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4208	14898
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-7MD]	4209	14899
		CD22	CD8SP-CD22-FHVH-24-[IgCL-TCRb-6MD]	4210	14900
	CD20	CD22	IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	4211	14901
		CD22	CD8SP-CD22-FHVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]	4212	14902
	CD20	CD22	IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4213	14903

Таблица 29. Биспецифичные и триспецифичные SAR-конструкции, нацеленные на CD20 и второй антиген, на которые нацелены CAR или SIR

1я (SIR) мишень	2я мишень	3я мишень	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Gly-Ser-Линкер-vL-Мус-CD8TM-BBz	4087	14777
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-PAC	4088	14778
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4089	14779
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	4090	14780
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4091	14781
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4092	14782

CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4093	14783
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4094	14784
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4095	14785
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4096	14786
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4097	14787
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4098	14788
CD19	CD20		CD8-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4099	14789
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4100	14790
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4101	14791
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4102	14792
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4103	14793
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4104	14794
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4105	14795

CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4106	14796
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4107	14797
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	4108	14798
CD19	CD20		CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	4109	14799
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3e-ECDTMCP-opt2	4110	14800
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3d-ECDTMCP-opt2	4111	14801
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3g-ECDTMCP-opt2	4112	14802
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3z-ECDTMCP-opt2	4113	14803
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	4114	14804
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]	4115	14805
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	4116	14806
CD19	CD20		IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]	4117	14807
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-28z	4118	14808
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-BBz	4119	14809
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	4120	14810
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	4121	14811
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4122	14812
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4123	14813

CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4124	14814
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4125	14815
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4126	14816
CD19		CD22	CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4127	14817
CD19		CD22	CD8SP-MYC-[hTCRa-T48C-opt1]-F-F2A-SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-V5-[hTCRb-S57C-opt1]-F-P2A-PAC	4128	14818
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4129	14819
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4130	14820
CD19		CD22	CD8SP-[hTCRb-opt2]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4131	14821
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4132	14822
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4133	14823
CD19		CD22	CD8SP-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4134	14824
CD19		CD22	CD8-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4135	14825
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4136	14826
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4137	14827

CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4138	14828
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4139	14829
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4140	14830
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4141	14831
CD19		CD22	CD8-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4142	14832
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4143	14833
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	4144	14834
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	4145	14835
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3e-ECDTMCP-opt2	4146	14836
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3d-ECDTMCP-opt2	4147	14837
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3g-ECDTMCP-opt2	4148	14838
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3z-ECDTMCP-opt2	4149	14839
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4150	14840
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-opt2]-F-F2A-PAC	4151	14841
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4152	14842
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-PAC	4153	14843

CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]	4154	14844
CD19		CD22	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	4155	14845
CD19		CD22	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]	4156	14846
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PAC	4157	14847
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]	4158	14848
CD19			IgHSP-hu-mROO5-1-vH-Myс-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	4159	14849
CD19			IgHSP-hu-mROO5-1-vH-Myс-[hTCRa-T48C-opt]	4160	14850
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-SDVP]-F-F2A-PAC	4161	14851
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KAIAH]-F-P2A-PAC	4162	14852
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	4163	14853
CD19		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4164	14854
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	4165	14855
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4166	14856
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4167	14857
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4168	14858
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4169	14859
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-	4170	14860

			vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC		
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4171	14861
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4172	14862
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4173	14863
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4174	14864
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4175	14865
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4176	14866
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4177	14867
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4178	14868
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4179	14869
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4180	14870

CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4181	14871
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4182	14872
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	4183	14873
CD19	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	4184	14874
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4185	14875
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	4186	14876
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4187	14877
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]	4188	14878
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4189	14879
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4190	14880
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	4191	14881
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	4192	14882
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	4193	14883
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-	4194	14884

			CH1-TCRd-6MD]-F-F2A-PAC		
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4195	14885
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4196	14886
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]	4197	14887
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4198	14888
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4199	14889
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4200	14890
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	4201	14891
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	4202	14892
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	4203	14893
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4204	14894
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4205	14895
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]	4206	14896
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4207	14897
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	4208	14898
	CD20	CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-7MD]	4209	14899
		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-6MD]	4210	14900
	CD20	CD22	IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	4211	14901
		CD22	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]	4212	14902

	CD20	CD22	IgSP-Ара-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	4213	14903
--	------	------	--	------	-------

Таблица 31. Моно-, би- и мультиспецифичные SAR-конструкции

МИШЕНЬ							
1я	2я	3я	4я	5я	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	4976	15666
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-CD8TM-BBz	4977	15667
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	4978	15668
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	4979	15669
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4980	15670
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	4981	15671
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	4982	15672
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	4983	15673
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	4984	15674

CD19	CD19				CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	4985	15675
CD19	CD19				CD8SP-MYC-[hTCRa-T48C-opt1]-F-F2A-SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-V5-[hTCRb-S57C-opt1]-F-P2A-PAC	4986	15676
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	4987	15677
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4988	15678
CD19	CD19				CD8SP-[hTCRb-opt2]-F-P2A-CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	4989	15679
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4990	15680
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	4991	15681
CD19	CD19				CD8SP-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	4992	15682
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	4993	15683

CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4994	15684
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	4995	15685
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4996	15686
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	4997	15687
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4998	15688
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	4999	15689
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5000	15690
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5001	15691

CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5002	15692
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	5003	15693
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3e-ECDTMCP-opt2	5004	15694
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3d-ECDTMCP-opt2	5005	15695
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3g-ECDTMCP-opt2	5006	15696
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3z-ECDTMCP-opt2	5007	15697
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5008	15698
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-opt2]-F-F2A-PAC	5009	15699
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5010	15700
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-PAC	5011	15701
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]	5012	15702
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PAC	5013	15703
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]	5014	15704

CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-SDVP]-F-F2A-PAC	5015	15705
CD19	CD19				CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KAIAH]-F-P2A-PAC	5016	15706
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Gly-Ser-Линкер-vL-Мyc-CD8TM-BBz	5017	15707
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	5018	15708
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5019	15709
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	5020	15710
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	5021	15711
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	5022	15712
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	5023	15713
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	5024	15714

CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5025	15715
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pre tc .Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5026	15716
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5027	15717
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	5028	15718
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5029	15719
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5030	15720
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5031	15721
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5032	15722

CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5033	15723
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5034	15724
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5035	15725
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5036	15726
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5037	15727
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5038	15728
CD19		CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	5039	15729
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3e-ECDTMCP-opt2	5040	15730

CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3d-ECDTMCP-opt2	5041	15731
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3g-ECDTMCP-opt2	5042	15732
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S-CD3z-ECDTMCP-opt2	5043	15733
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	5044	15734
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]	5045	15735
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	5046	15736
CD19		CD20			IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]	5047	15737
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	5048	15738
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5049	15739
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	5050	15740
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-	5051	15741

					[hTCRa-T48C]		
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	5052	15742
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	5053	15743
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	5054	15744
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5055	15745
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pre ϵ .Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5056	15746
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5057	15747
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	5058	15748

CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5059	15749
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5060	15750
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5061	15751
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5062	15752
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5063	15753
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5064	15754

CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5065	15755
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5066	15756
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5067	15757
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5068	15758
CD19	CD19	CD20			CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	5069	15759
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-28z	5070	15760
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-BBz	5071	15761

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	5072	15762
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	5073	15763
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5074	15764
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	5075	15765
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	5076	15766
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	5077	15767
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	5078	15768
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5079	15769

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-MYC-[hTCRa-T48C-opt1]-F-F2A-SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-V5-[hTCRb-S57C-opt1]-F-P2A-PAC	5080	15770
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5081	15771
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5082	15772
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-[hTCRb-opt2]-F-P2A-CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5083	15773
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5084	15774
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	5085	15775
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5086	15776
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5087	15777

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5088	15778
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5089	15779
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5090	15780
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5091	15781
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5092	15782
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5093	15783
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5094	15784

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5095	15785
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5096	15786
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	5097	15787
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3e-ECDTMCP-opt2	5098	15788
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3d-ECDTMCP-opt2	5099	15789
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3g-ECDTMCP-opt2	5100	15790
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3z-ECDTMCP-opt2	5101	15791
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5102	15792
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-opt2]-F-F2A-PAC	5103	15793
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5104	15794

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-PAC	5105	15795
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]	5106	15796
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PAC	5107	15797
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]	5108	15798
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-SDVP]-F-F2A-PAC	5109	15799
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KAIAH]-F-P2A-PAC	5110	15800
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	5111	15801
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5112	15802
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	5113	15803

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	5114	15804
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	5115	15805
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	5116	15806
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	5117	15807
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5118	15808
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pre <i>tc</i> .Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5119	15809
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5120	15810
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-	5121	15811

					mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]		
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5122	15812
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5123	15813
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5124	15814
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5125	15815
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5126	15816

CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5127	15817
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5128	15818
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5129	15819
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5130	15820
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5131	15821
CD19	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	5132	15822

	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5133	15823
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	5134	15824
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5135	15825
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]	5136	15826
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5137	15827
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5138	15828
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5139	15829
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	5140	15830

	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	5141	15831
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5142	15832
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5143	15833
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5144	15834
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]	5145	15835
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5146	15836
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5147	15837
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5148	15838
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	5149	15839

	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	5150	15840
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRg-7MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5151	15841
	CD19	CD20	BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRd-7MD]-F-F2A-PAC	5152	15842
	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRb-6MD]	5153	15843
	CD19		BCMA		CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRg-6MD]	5154	15844
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Gly-Ser-Линкер-vL-Myc-CD8TM-BBz	5155	15845
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-PAC	5156	15846
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5157	15847
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	5158	15848
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	5159	15849

CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	5160	15850
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	5161	15851
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	5162	15852
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5163	15853
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5164	15854
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5165	15855
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	5166	15856
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5167	15857

CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5168	15858
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5169	15859
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5170	15860
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5171	15861
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5172	15862
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5173	15863

CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL- CD3zECDTMCP-opt-F-P2A- Spe-IgSP-CD22-FHVVH-158- G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25- G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH- Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F- F2A-PAC	5174	15864
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL- [IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A- IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1- TCRd-6MD]	5175	15865
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL- [IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F- P2A-IgSP-CD22-FHVVH-158- G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25- G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH- [IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5176	15866
CD19	CD22	CD20			CD8SP-hu-mROO5-1-vL- [IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F- P2A-IgSP-CD22-FHVVH-158- G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25- G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH- [IgG1-CH1-TCRa-wt-op2- 6MD]	5177	15867
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S- CD3e-ECDTMCP-opt2	5178	15868
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S- CD3d-ECDTMCP-opt2	5179	15869
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S- CD3g-ECDTMCP-opt2	5180	15870
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-(vH-vL)-G3S- CD3z-ECDTMCP-opt2	5181	15871
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-vH-[hTCRa- opt2]-F-F2A-BlastR	5182	15872
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2- hu-mROO5-1-vH-[hTCRa- opt2]	5183	15873

CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	5184	15874
CD19	CD22	CD20			IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRa-T48C-opt]	5185	15875
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	5186	15876
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	5187	15877
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	5188	15878
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	5189	15879
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	5190	15880

CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	5191	15881
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	5192	15882
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	5193	15883
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[pre <i>tc</i> .Ra-Del48]-F-F2A-PAC	5194	15884
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	5195	15885
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	5196	15886

CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5197	15887
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5198	15888
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	5199	15889
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5200	15890
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	5201	15891

CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5202	15892
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	5203	15893
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	5204	15894
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	5205	15895
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	5206	15896
CD19	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-	5207	15897

					TCRa-wt-opt2-6MD]		
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5208	15898
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	5209	15899
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5210	15900
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]	5211	15901
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-2HCD25-VHH-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5212	15902
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	5213	15903
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-	5214	15904

					2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир- v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F- F2A-PAC		
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1- Шарнир-[TCRb-wt-opt2- 6MD]-F-P2A-IgSP-CD22- FHVH-158-G4Sx2-CD20- 2HCD25-VHH-IgG1-Шарнир- v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	5215	15905
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-GS- [TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A- IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-IgG1- Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2- 6MD]	5216	15906
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL- TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP- CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-[IgG1- CH1-TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5217	15907
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-[IgCL- TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP- CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-[IgG1- CH1-TCRd-6MD]	5218	15908
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-GS- [TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP- CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-GS- [TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	5219	15909
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-GS- [TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP- CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-GS- [TCRd-6MD]	5220	15910
	CD19	CD22	CD20	BCMA	CD8SP-BCMA-FHVH-33- G3Sx2-CD19-vHH-048-IgG1- Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A- IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-IgG1- Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	5221	15911
		CD22	CD20		IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-[IgG1-	5222	15912

					CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]		
		CD22	CD20		IgSP-CD22-FHVVH-158-G4Sx2- CD20-2HCD25-VHH-[IgG1- CH1-TCRd-6MD]	5223	15913

Таблица 32. Биспецифичные и триспецифичные конструкции на разных каркасах, нацеленные на разные антигены. Эти конструкции были созданы путем замены модулей AABD конструкции в таблице 31 модулями, показанными в первой конструкции каждой серии в таблице ниже. Порядок фрагментов константной цепи TCR конструкций каждой серии в Таблице 32 такой же, как порядок фрагментов константной цепи TCR конструкций серии 1, подробные сведения о которых представлены в Таблице 31.

МИШЕНЬ							
1я	2я	3я	4я	5я	Название первой конструкции в серии	SEQ ID NO Серии (DNA)	SEQ ID NO Серии (PRT)
CD19	CD19	CD20	CD22	BCMA	CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	4976-5223	15666-15913
CD19	CD38	CD20	CD22	BCMA	CD8SP-CD38-FHVVH-309021-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	5224-5471	15914-16161
CD19	CD123	CD20	CD22	BCMA	CD8SP-CD123-vHH-2-309021-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	5472-5719	16162-16409
CD19	Her2	Her3	CD22	EGFR	CD8SP-Her2-vHH-2D3-309021-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	5720-5967	16410-16657
CD19	Her2	IL13Ra2	CD22	BCMA	CD8SP-Her2-vHH-2D3-309021-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	5968-6215	16658-16905
CD19	CD38	CD20	CD22	BCMA	CD8SP-CD38-USC1-FHVVH-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	6216-6463	16906-17153

Таблица 33. Биспецифичные SAR-конструкции, нацеленные на CD22 и/или PSMA

Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6464	17154
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-28z-T2A-PAC	6465	17155
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-28z	6466	17156
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-CD8TM-BBz	6467	17157
CD8SP-PSMA-chVH-71v2-SG4S-CD22-FHVVH-24-Myc-CD8TM-BBz	6468	17158
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC	6469	17159
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	6470	17160
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	6471	17161
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-T48C]	6472	17162
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	6473	17163
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRb-S57C]	6474	17164
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	6475	17165
CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	6476	17166
CD8SP-MYC-[hTCRa-T48C-opt1]-F-F2A-SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-V5-[hTCRb-S57C-opt1]-F-P2A-PAC	6477	17167
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	6478	17168
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-Myc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	6479	17169
CD8SP-[hTCRb-opt2]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	6480	17170
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	6481	17171
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRd-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRg1-opt]	6482	17172
CD8SP-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	6483	17173

CD8-CD22-FHVVH-24-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	6484	17174
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	6485	17175
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	6486	17176
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	6487	17177
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	6488	17178
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	6489	17179
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	6490	17180
CD8-CD22-FHVVH-24-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-PSMA-chVH-71v2-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	6491	17181
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	6492	17182
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	6493	17183
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	6494	17184
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-CD3e-ECDTMCP-opt2	6495	17185
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-CD3d-ECDTMCP-opt2	6496	17186
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-CD3g-ECDTMCP-opt2	6497	17187
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-CD3z-ECDTMCP-opt2	6498	17188
CD8SP-PSMA-chVH-71v2-SG4S-CD22-FHVVH-24-CD3e-ECDTMCP-opt2	6499	17189
CD8SP-PSMA-chVH-71v2-SG4S-CD22-FHVVH-24-CD3d-ECDTMCP-opt2	6500	17190
CD8SP-PSMA-chVH-71v2-SG4S-CD22-FHVVH-24-CD3g-ECDTMCP-opt2	6501	17191
CD8SP-PSMA-chVH-71v2-SG4S-CD22-FHVVH-24-CD3z-ECDTMCP-opt2	6502	17192
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	6503	17193
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-[hTCRb-opt2]-F-F2A-PAC	6504	17194

CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	6505	17195
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-opt2]-F-P2A-PAC	6506	17196
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRb-opt2]	6507	17197
IgHSP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	6508	17198
IgHSP-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-opt2]	6509	17199
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PAC	6510	17200
CD8SP-CD22-FHVVH-24-V5-[hTCRb-S57C-opt]	6511	17201
IgHSP-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	6512	17202
IgHSP-PSMA-chVH-71v2-Myc-[hTCRa-T48C-opt]	6513	17203
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-[hTCRa-SDVP]-F-F2A-PAC	6514	17204
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-[hTCRb-KAIAH]-F-P2A-PAC	6515	17205
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-G4S-CD3e-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	6516	17206
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-G4S-CD3d-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	6517	17207
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-G4S-CD3g-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	6518	17208
CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-G4S-CD3z-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	6519	17209
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	6520	17210
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]	6521	17211
CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	6522	17212
CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]	6523	17213
CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	6524	17214
CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	6525	17215
CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC	6526	17216
CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	6527	17217
CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRa-wt-opt2-6MD]	6528	17218
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	6529	17219
CD8SP-CD22-FHVVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	6530	17220
CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	6531	17221

CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-GS-[TCRd-6MD]	6532	17222
CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-GS-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	6533	17223
CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	6534	17224
CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]-F-F2A-PAC	6535	17225
CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-IgG1-Шарнир-v2-[TCRd-6MD]	6536	17226

Таблица 34. Биспецифичные и триспецифичные конструкции на разных каркасах, нацеленные на разные антигены. Эти конструкции были созданы путем замены модулей AABD конструкции в таблице 33 модулями, показанными в первой конструкции каждой серии в таблице ниже. Порядок каркаса (например, фрагментов константной цепи TCR) конструкций каждой серии в Таблице 34 такой же, как и порядок каркасов (например, фрагментов константной цепи TCR) конструкций серии 1, подробности которой представлены в Таблица 33.

1я мишень	2я мишень	Название первой конструкции в серии	SEQ ID NO Серии (DNA)	SEQ ID NO Серии (PRT)
CD22	BCMA	CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6464-6536	17154-17226
CD22	PSMA	CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-PSMA-chVH-28-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6537-6609	17227-17299
CD22	CD19	CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-CD19-FHVVH-354-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6610-6682	17300-17372
CD22	BCMA	CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-BCMA-FHVVH-74-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6683-6755	17373-17445
CD22	BCMA	CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6756-6828	17446-17518
CD22	CEA	CD8SP-CD22-FHVVH-24-SG4S-CEA-aVH-3001-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6829-6901	17519-17591
CEA	BCMA	CD8SP-CEA-aVH-300-SG4S-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6902-6974	17592-17664
BCMA	CD19	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-SG4S-CD19-FHVVH-354-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	6975-7047	17665-17737
BCMA	CD38	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-SG4S-CD38-FHVVH-309021-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7048-7120	17738-17810
CD20	CD22	CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD22-USC1-FHVVH-160-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7121-7193	17811-17883
BCMA	CD38	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-SG4S-CD38-FHVVH-USC1-32184-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7194-7266	17884-17956
CD20	CD19	CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD19-FHVVH-354-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7267-7339	17957-18029

Таблица 35. SAR на каркасе доменов vL и vH hu-mROO5 (серия 1)

ТИП	Название фрагмента	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)
CAR 2го пок.	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-CD8TM-BBz-T2A-РАС	7340	18030
CAR 2го пок.	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z-T2A-РАС	7341	18031
CAR 2го пок.	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-28z	7342	18032
CAR 2го пок.	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-CD8TM-BBz	7343	18033
CAR 2го пок.	CD8SP-hu-mROO5-1-vH-Gly-Ser-Линкер-vL-Мyc-CD8TM-BBz	7344	18034
CAR 2го пок.	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-РАС	7345	18035
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-РАС	7346	18036
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС	7347	18037
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	7348	18038
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt	7349	18039
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	7350	18040
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]-F-P2A-K13-opt	7351	18041
OHC SIR	CD8SP-V5-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС	7352	18042
OHC SIR	CD8SP-MYC-[hTCRa-T48C-opt1]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-V5-[hTCRb-S57C-opt1]-F-P2A-РАС	7353	18043
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-РАС	7354	18044
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Мyc-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-РАС	7355	18045
OHC SIR	CD8SP-[hTCRb-opt2]-F-P2A-CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-РАС	7356	18046
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Мyc-[hTCRd-opt]-F-F2A-РАС	7357	18047
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt]	7358	18048

OHC SIR	CD8SP-V5-[hTCRg1-opt]-F-P2A-CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRd-opt]-F-F2A-PAC	7359	18049
DC zSIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	7360	18050
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	7361	18051
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KAC-ECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP-ECD-CD3zECDTMCP-opt2]	7362	18052
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	7363	18053
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-28z-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc-[hTCRaECD-CD3zECDTM-28z-opt2]	7364	18054
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	7365	18055
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRbECD-CD3zECDTM-BBz-opt]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Myc4-[hTCRaECD-CD3zECDTM-BBz-opt2]	7366	18056
DC SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-hu-mROO5-1-vH-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	7367	18057
DC Ab-TCR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	7368	18058
DC Ab-TCR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-IAH-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-SDVP-6MD]	7369	18059
DC Ab-TCR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	7370	18060
TFPe	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3e-ECDTMCP-opt2	7371	18061
TFPd	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3d-ECDTMCP-opt2	7372	18062
TFPg	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3g-ECDTMCP-opt2	7373	18063
TFPz	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3z-ECDTMCP-opt2	7374	18064
TFPe	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3e-ECDTMCP-opt2	7375	18065
TFPd	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3d-ECDTMCP-opt2	7376	18066
TFPg	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3g-ECDTMCP-opt2	7377	18067
TFPz	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-CD3z-ECDTMCP-opt2	7378	18068
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-PAC	7379	18069
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-opt2]-F-F2A-PAC	7380	18070

цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myс4-[pretc.Ra-Del48]-F-F2A-PAC	7381	18071
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]-F-P2A-PAC	7382	18072
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-opt2]	7383	18073
цепь SIR	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]-F-F2A-BlastR	7384	18074
цепь SIR	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-opt2]	7385	18075
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PAC	7386	18076
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-V5-[hTCRb-S57C-opt]	7387	18077
цепь SIR	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-Myс-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-BlastR	7388	18078
цепь SIR	IgHSP-hu-mROO5-1-vH-Myс-[hTCRa-T48C-opt]	7389	18079
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-SDVP]-F-F2A-PAC	7390	18080
цепь SIR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KAIAH]-F-P2A-PAC	7391	18081
TFPS-CD3e-ECDTMCP-opt2-F	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-G4S-CD3e-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	7392	18082
TFP-CD3d-ECDTMCP-opt2-F	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-G4S-CD3d-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	7393	18083
TFPS-CD3g-ECDTMCP-opt2-F	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-G4S-CD3g-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	7394	18084
TFPS-CD3z-ECDTMCP-opt2-F	CD8SP-hu-mROO5-1-scFv-G4S-CD3z-ECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC	7395	18085
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHvH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]	7396	18086
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHvH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	7397	18087
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHvH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	7398	18088
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHvH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	7399	18089
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHvH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-F2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	7400	18090
Триспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHvH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-CD22-FHvH-24-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C]	7401	18091

Триспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt]-F-P2A-SP-CD22-FHVVH-24-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]	7402	18092
Триспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-FHVVH-24-CD19-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]	7403	18093
Триспецифичный DC SAR	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-F2A-SP-CD22-FHVVH-24-CD19-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD]	7404	18094
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-CD38-USC1-FHVVH-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	7405	18095
Биспецифичный DC SAR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	7406	18096
Триспецифичный DC SAR	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-USC1-FHVVH-160-G4Sx2-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	7407	18097
Триспецифичный DC SAR	CD8SP-CD38-USC1-FHVVH-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]	7408	18098

Таблица 36. Моноспецифичные, биспецифичные и триспецифичные конструкции на разных каркасах, нацеленные на разные антигены. Эти конструкции были созданы путем замены модулей vL/vH конструкции в таблице 35 на vL/vH, показанные в первой конструкции каждой серии в таблице ниже. Порядок фрагментов константной цепи TCR конструкций каждой серии в Таблице 36 такой же, как порядок фрагментов константной цепи TCR конструкций серии 1, подробные сведения о которых представлены в Таблице 35.

Серии	Мишень	Незвание первой конструкции в серии	SEQ ID NO Серии (DNA)	SEQ ID NO Серии (PRT)
1	CD19	CD8SP-hu-mROO5-1-vL-G4Sx3-hu-mROO5-1-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7340-7408	18030-18098
2	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC73-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC73-G32S-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7409-7477	18099-18167
3	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC74-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC74-F35Y-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7478-7546	18168-18236
4	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC75-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC75-V104T-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7547-7615	18237-18305
5	BCMA	CD8SP-BCMA-huUSC76-vL-G4Sx3-BCMA-huUSC76-I58S-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7616-7684	18306-18374

6	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC77-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC77-T59S-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7685-7753	18375-18443
9	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC80-N25K-vL-G4Sx3-BCMA-huUSC80-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7892-7960	18582-18650
10	BCMA	CD8SP-BCMA-huUSC81-I27L-vL-G4Sx3-BCMA-huUSC81-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	7961-8029	18651-18719
11	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC82-S29G-vL-G4Sx3-BCMA-huUSC82-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8030-8098	18720-18788
12	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC83-S31T-vL-G4Sx3-BCMA-huUSC83-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8099-8167	18789-18857
13	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC80-N25K-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC73-G32S-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8168-8236	18858-18926
14	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC81-I27L-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC73-G32S-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8237-8305	18927-18995
15	BCMA	CD8SP-BCMA-hu-USC82-S29G-vL-G4Sx3-BCMA-hu-USC73-G32S-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8306-8374	18996-19064
16	ROR1	CD8SP-ROR1-JJ-67-vL-G4Sx3-ROR1-JJ-67-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8375-8443	19065-19133
17	ROR1	CD8SP-ROR1-JJ-78-vL-G4Sx3-ROR1-JJ-78-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8444-8512	19134-19202
18	ROR1	CD8SP-ROR1-JJ-76-vL-G4Sx3-ROR1-JJ-76-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8513-8581	19203-19271
19	CD20	CD8SP-CD20-Ритуксимаб-vL-G4Sx3-CD20-Ритуксимаб-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8582-8650	19272-19340
20	Her2	CD8SP-Her2-FRP5-vL-G4Sx3-Her2-FRP5-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8651-8719	19341-19409
21	CEA	CD8SP-CEA-huMN14-vL-G4Sx3-CEA-huMN14-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8720-8788	19410-19478
22	CEA	CD8SP-CEA-BW431-26-vL-G4Sx3-CEA-BW431-26-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8789-8857	19479-19547
23	Her2	CD8SP-Her2-huMab4D5-H91A-vL-G4Sx3-Her2-huMab4D5-D98A-F100A-Y102V-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8858-8926	19548-19616
24	Her2	CD8SP-Her2-USC-1516-vL-G4Sx3-Her2-USC-1516-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8927-8995	19617-19685
25	TOSO	CD8SP-TOSO-6B10-vL-G4Sx3-TOSO-6B10-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	8996-9064	19686-19754
26	CD30	CD8SP-CD30-HRS3-vL-G4Sx3-CD30-HRS3-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9065-9133	19755-19823
27	CD229	CD8SP-CD229-USC1-2D4-vL-G4Sx3-CD229-USC1-2D4-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9134-9202	19824-19892

28	CD229	CD8SP-CD229-2A2-vL-G4Sx3-CD229-2A2-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9203-9271	19893-19961
29	CD229	CD8SP-CD229-USC3-2D5-vL-G4Sx3-CD229-USC3-2D5-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9272-9340	19962-20030
30	CD229	CD8SP-CD229-USC2-2D4-vL-G4Sx3-CD229-USC2-2D4-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9341-9409	20031-20099
31	EBV-gp350	CD8SP-EBV-gp350-7A1-vL-G4Sx3-EBV-gp350-7A1-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9410-9478	20100-20168
32	EBV-gp350	CD8SP-EBV-gp350-6G4-vL-G4Sx3-EBV-gp350-6G4-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9479-9547	20169-20237
33	INFLUENZA-NA	CD8SP-INFL-NA-1E01-vL-G4Sx3-INFL-NA-1E01-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9548-9616	20238-20306
34	EBV-LMP1	CD8SP-EBV-LMP1-HLEA-vL-G4Sx3-EBV-LMP1-HLEA-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9617-9685	20307-20375
35	PSMA	CD8SP-PSMA-J591-ds75-vL-G4Sx3-PSMA-J591-ds75-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9686-9754	20376-20444
36	PSMA	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-G4Sx3-hu-PSMA-J591-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9755-9823	20445-20513
37	PSMA	CD8SP-hu-PSMA-2-J591-vL-G4Sx3-hu-PSMA-2-J591-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9824-9892	20514-20582
38	PSMA	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-G4Sx3-PSMA-J591-ds75-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9893-9961	20583-20651
39	PSMA	CD8SP-PSMA-J591-ds75-vL-G4Sx3-hu-PSMA-J591-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	9962-10030	20652-20720
40	MUC1	CD8SP-hu-MUC1-star2-MN-E6-vL-G4Sx3-hu-MUC1-star2-MN-E6-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10031-10099	20721-20789
41	MUC1	CD8SP-MUC1-star-MN-E6-vL-G4Sx3-MUC1-star-MN-E6-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10100-10168	20790-20858
42	MUC1	CD8SP-hu-MUC1-star-MN-C2-vL-G4Sx3-hu-MUC1-star-MN-C2-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10169-10237	20859-20927
43	gpA33	CD8SP-hu-gpA33-C825-vL-G4Sx3-hu-gpA33-C825-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10238-10306	20928-20996
44	MSLN	CD8SP-MSLN-7D10-vL-G4Sx3-MSLN-7D10-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10307-10375	20997-21065
45	MSLN	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vL-G4Sx3-MSLN-7D9-HL-vH-Y27F-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10376-10444	21066-21134
46	MSLN	CD8SP-MSLN-7D9-HL-vL-V29-G4Sx3-MSLN-7D9-HL-vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10445-10513	21135-21203
47	MSLN	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-G4Sx3-MSLN-hu22A10-vH-F27Y-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10514-10582	21204-21272
48	MSLN	CD8SP-MSLN-hu22A10 -vL-N31S-vH-G4Sx3-MSLN-hu22A10 -vH-Myc-CD8TM-BBz-T2A-PAC	10583-10651	21273-21341

49	MSLN	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Y96W-G4Sx3-MSLN-hu22A10-vH-Myс-CD8TM-BBz-T2A-РАС	10652-10720	21342-21410
----	------	--	-------------	-------------

Таблица 37. Примерные метки эпитопов

SEQ ID NO	НАЗВАНИЕ	SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ
22411	RITX	22423	Цитуксимаб-mimo-1
22412	Ritx2	22424	Цитуксимаб-mimotorx2
22413	RitxGA	22425	Цитуксимаб-mimotor
22414	RitxGA4	22426	Панитумумаб-tag1
22415	RituxGAtag	22427	Панитумумаб-tag2
22416	RitxGAx22-opt2	22428	Панитумумаб-tag3
22417	RitxGAx2	22429	Панитумумаб-tag4
22418	R15Cx2	22430	Панитумумаб-tag2x2
22419	R5pLx2-Qbendx2CD28TM	22431	Панитумумаб-tag2-v2
22420	RituxGAtag-Герцептин-Mimotag	22432	Герцептин-Mimotag
22421	Цитуксимаб-Mimotorpe1	22433	НерсерMimotorx3
22422	Цитуксимаб-mimo-1x2		

Таблица 38. Эпитопы, рестриктированные по МНС

Название фрагмента	SEQ ID NO	Название фрагмента	SEQ ID NO
gp100	21443	EBNA-3c	21455
gp100	21444	WT1	21456
gp100	21445	PR1	21457
MUC1-A7(130-138)	21446	Ras9-G12V	21458
MUC1-D6(13-21)	21447	HPV16-E7	21459
TAX(11-19)	21448	NY-ESO-1-(155-163)	21460
hTERT(540-548)	21449	NY-ESO-1-(157-165)	21461
hTERT(865-873)	21450	NY-ESO-1-(157-167)	21462
HIV1gag(77-85)	21451	Мезотелин	21463
CMV-pp65(495-503)	21452	пептид MAGE-A3	21464
MART(26-35)	21453	AFP-158	21465
EBNA-3A(596-604)	21454		

Таблица 39. Новые антигенсвязывающие домены с CDR

МИШЕНЬ	Название фрагмента	SEQ ID NO	CDR1 SEQ ID NO	CDR2 SEQ ID NO	CDR3 SEQ ID NO
MSLN	MSLN-7D10-vL	23136	23181	23226	23271
MSLN	MSLN-7D9-HL-vL	23137	23182	23227	23272
MSLN	MSLN-7D9-HL-V29L-vL	23138	23183	23228	23273
MSLN	MSLN-hu22A10-vL	23139	23184	23229	23274
MSLN	MSLN-hu22A10-N31S-vL	23140	23185	23230	23275

MSLN	MSLN-hu22A10-Y96W-vL	23141	23186	23231	23276
BCMA	BCMA-hu-USC79-vL	23142	23187	23232	23277
BCMA	BCMA-hu-USC80-N25K-vL	23143	23188	23233	23278
BCMA	BCMA-hu-USC81-I27L-vL	23144	23189	23234	23279
BCMA	BCMA-hu-USC82-S29G-vL	23145	23190	23235	23280
BCMA	BCMA-hu-USC83-S31T-vL	23146	23191	23236	23281
CS1	hu-Luc64-2-vL	23147	23192	23237	23282
MSLN	MSLN-7D10-vH	23148	23193	23238	23283
MSLN	MSLN-7D9-HL-Y27F-vH	23149	23194	23239	23284
MSLN	MSLN-7D9-HL-vH	23150	23195	23240	23285
MSLN	MSLN-hu22A10-F27Y-vH	23151	23196	23241	23286
MSLN	MSLN-hu22A10-vH	23152	23197	23242	23287
MSLN	MSLN-hu22A10-vH	23153	23198	23243	23288
BCMA	BCMA-hu-USC73-G32S-vH	23154	23199	23244	23289
BCMA	BCMA-huUSC74-F35Y-vH	23155	23200	23245	23290
BCMA	BCMA-huUSC75-V104T-vH	23156	23201	23246	23291
BCMA	BCMA-huUSC76-I58S-vH	23157	23202	23247	23292
BCMA	BCMA-huUSC77-T59S-vH	23158	23203	23248	23293
BCMA	BCMA-huUSC78-S64G-vH	23159	23204	23249	23294
BCMA	BCMA-huUSC79-S64T-vH	23160	23205	23250	23295
CS1	hu-Luc64-A60T-vH	23161	23206	23251	23296
CD20	CD20-VHH-USC1	23162	23207	23252	23297
MUC16	MUC16-vHH-R3MU5-USC1	23163	23208	23253	23298
MUC16	MUC16-USC2-huR3MU30	23164	23209	23254	23299
IL13Ra2	IL13Ra2-vHH-USC2-C13	23165	23210	23255	23300
IL13Ra2	IL13Ra2-huvHH-USC1-C1	23166	23211	23256	23301
BCMA	BCMA917-vHH-E59D	23167	23212	23257	23302
CD38	CD38-331-vHH-D64E	23168	23213	23258	23303
CD38	CD38-331-vHH-S53E	23169	23214	23259	23304
CD123	CD123-USC-3-vHH	23170	23215	23260	23305
PD1	PD1-vHH-USC-102C4	23171	23216	23261	23306
PD1	PD1-vHH-USC-707	23172	23217	23262	23307
PD1	PD1-vHH-C13	23173	23218	23263	23308
CD22	CD22-FHVH-162	23174	23219	23264	23309
PSMA	PSMA-USC-29-chVH	23175	23220	23265	23310
PSMA	PSMA-USC-30-chVH	23176	23221	23266	23311
PSMA	PSMA-USC-31-chVH	23177	23222	23267	23312
PSMA	PSMA-USC76-chVH	23178	23223	23268	23313
PSMA	PSMA-USC101-chVH	23179	23224	23269	23314
PSMA	PSMA-USC104-chVH	23180	23225	23270	23315

Таблица 40: Примеры заболеваний, на которые направлены SAR.

МИШЕНЬ SAR/BiTE “X”	ПРИМЕРНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ, НА КОТОРОЕ НАЦЕЛЕНА SAR (i.e., обычные CAR и CAR нового поколения, например, SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP, Tri-TAC и TCR)
CD19	ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, лимфоидный бластный криз ХМЛ, множественная миелома, иммунные нарушения
АЛК	Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), АККЛ (анapластическая крупноклеточная лимфома), ВМО (воспалительная миофибробластическая опухоль) или нейробластома
CD45	Гемобластоз
BCMA	Миелома, ЧЭЛ, плазмноклеточный лейкоз, макроглобинемия Вальденстрема
CD5	Гемобластоз, Т-клеточный лейкоз, Т-клеточная лимфома
CD20	Гемобластозы, лейкоз, ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, иммунные нарушения
CD22	Гемобластоз, лейкоз, ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, лимфоидный бластный криз ХМЛ, иммунные нарушения
CD23	Гемобластозы, лейкоз, ОЛЛ, ХЛЛ, лимфома, аутоиммунные заболевания
CD30	лимфома Ходжкина, кожная Т-клеточная лимфома
CD32	Солидные опухоли
CD33	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
CD34	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
CD44v6	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
CD70	Гемобластозы, лимфома, миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, рак почки
CD79b	Гемобластозы, ОЛЛ, Лимфома
CD123	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
CD138	Гемобластозы, миелома, ЧЭЛ, плазмноклеточный лейкоз, макроглобулинемия Вальденстрема
CD179b	Гемобластозы, ОЛЛ, Лимфома
CD276/B7-H3	Саркома Юинга, нейробластома, рабдомиосаркома, рак яичников, колоректальный рак и рак легкого
CD324	Солидные опухоли, рак пищевода, предстательной железы, колоректальный рак, рак молочной железы, легких
CDH6	Солидные опухоли, рак почек, яичников, щитовидной железы
CDH17	Аденокарциномы, рак желудочно-кишечного тракта, легких, яичников, эндометрия
CDH19	Солидная опухоль, меланома
EGFR	Рак толстой кишки, рак легкого
CLEC5A	Гемобластоз, лейкоз, ОМЛ
GR/LHR	Рак предстательной железы, рак яичников или рак молочной железы
CLL1	Гемобластоз, лейкоз
CMVpp65	CMV-инфекция, CMV-колит, CMV-пневмонит
CS1/SLAMF7	Гемобластоз, миелома, ЧЭЛ, лейкоз плазматических клеток, ХЛЛ, меланома, рак легкого, рак яичников
CSF2RA	ОМЛ, ХМЛ, МДС
CD123	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
DLL3	Меланома, рак легкого или рак яичников
EBNA3c/MHC I	Вирусная инфекция Эпштейна-Барр и связанные с ней заболевания,

МИШЕНЬ SAR/BitE "X"	ПРИМЕРНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ, НА КОТОРОЕ НАЦЕЛЕНА SAR (i.e., обычные SAR и SAR нового поколения, например, SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP, Tri-TAC и TCR)
	включая онкологические
EBV-gp350	Вирусная инфекция Эпштейна-Барра и связанные с ней заболевания
EGFR	Солидные опухоли, рак толстой кишки, рак легкого
EGFRvIII	Солидные опухоли, глиобластома
ErCam1	Рак желудочно-кишечного тракта
FLT3	Гемобластоз, ОМЛ, МДС, ОЛЛ
Рецептор фолиевой кислоты альфа (FR1 или FOLR1)	Рак яичников, НМРЛ, рак эндометрия, рак почки или другие солидные опухоли
FSHR	Рак предстательной железы, рак яичников или рак молочной железы
GD2	Нейробластома
GD3	Меланома
GFRa4	Рак, медуллярный рак щитовидной железы
Фукозил-GM1 (GM1)	Мелкоклеточный рак легкого
GPRC5D	Миелома, ЧЭЛ, лейкоз плазматических клеток, макроглобулинемия Вальденстрема
gp100	Меланома
GPC3	Солидные опухоли, Рак легкого
gpNMB	Меланома, опухоли головного мозга, рак желудка
GRP78	Миелома
Her2	Солидные опухоли, рак молочной железы, рак желудка
Her3	Колоректальный рак, рак молочной железы
HMW-MAA	Меланома
HTLV1- TAX/MHC I	Заболевания, связанные с инфекцией HTLV1, Т-клеточный лейкоз- лимфома взрослых
IL11Ra	Гемобластоз, ОМЛ, ОЛЛ, ХМЛ, МДС, саркомы
IL6Ra	Солидные опухоли, Рак печени
IL13Ra2	Глиобластомы
KSHV-K8.1	Саркома Капоши, ЧЭЛ, мультицентрическая болезнь Кастанеллана
LAMP1	Гемобластозы, ОМЛ, ОЛЛ, МДС, ХЛЛ, ХМЛ
LewisY	Рак
L1CAM	Солидные опухоли, рак яичников, молочной железы, рак эндометрия, меланома
LHR	Рак предстательной железы, рак яичников или рак молочной железы
Lym1	Гемобластоз, лейкоз, лимфома
Lym2	Гемобластоз, лейкоз, лимфома
CD79b	Гемобластоз, лимфома
MART1/MHC I	Меланома
мезотелин	Мезотелиома, рак яичников, рак поджелудочной железы
Muc1/MHC I	Рак молочной железы, рак желудка, колоректальный рак, рак легкого или другие солидные опухоли
Muc16	Рак яичников

МИШЕНЬ SAR/BitE "X"	ПРИМЕРНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ, НА КОТОРОЕ НАЦЕЛЕНЫ SAR (i.e., обычные CAR и CAR нового поколения, например, SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP, Tri-TAC и TCR)
NKG2D	Лейкоз, лимфома или миелома
NYBR1	Рак молочной железы
PSCA	Рак предстательной железы
PR1/МНС I	Гемобластоз, лейкоз
Рецептор пролактина	Рак молочной железы, хромофобный почечно-клеточный рак
PSMA	Рак предстательной железы
PTK7	Меланома, рак легкого или рак яичников
ROR1	Гемобластоз, В-клеточное злокачественное новообразование, лимфома, ХЛЛ
SLea	Рак поджелудочной железы, рак ободочной кишки
SSEA4	рак поджелудочной железы
Тирозиназа/МНС I	Меланома
TCRB1	Т-клеточные лейкозы и лимфомы, аутоиммунные заболевания
TCRB2	Т-клеточные лейкозы и лимфомы, аутоиммунные заболевания
TCRgd	Т-клеточные лейкозы и лимфомы, аутоиммунные заболевания
hTERT	Солидные опухоли, гемобластозы
TGFBR2	Солидные опухоли, келоиды
TIM1/HAVCR1	Рак почки, рак печени
TROP2	Солидные опухоли, рак молочной железы, рак предстательной железы
TSHR	Рак щитовидной железы, Т-клеточный лейкоз, Т-клеточная лимфома
TSLPR	Гемобластозы, лейкозы, ОМЛ, МДС
Тирозиназа/МНС I	Меланома
VEGFR3	Солидные опухоли
WT1/МНС I	Гемобластозы, ОМЛ
Рецептор фолиевой кислоты β	ОМЛ, миелома
B7H4	Рак молочной железы или рак яичников
CD23	Гемобластозы, лейкозы, ХЛЛ
GCC	Рак желудочно-кишечного тракта
CD200R	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
AFP/МНС I	Солидные опухоли, Рак печени
CD99	Рак печени
GPRC5D	Миелома, макроглобинемия Вальденстрема
HPV16-E7/МНС I	Рак, ассоциированный с HPV16, рак шейки матки, рак головы и шеи
Тканевой фактор 1 (TF1)	Солидные опухоли
Tn-Muc1	Солидные опухоли и гемобластозы
Igk-Легкая цепь	Миелома, плазмоклеточный лейкоз
Ras G12V/ МНС I	Солидные опухоли и гемобластозы

МИШЕНЬ SAR/ВiTE “X”	ПРИМЕРНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ, НА КОТОРОЕ НАЦЕЛЕНЫ SAR (i.e., обычные SAR и SAR нового поколения, например, SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP, Tri-TAC и TCR)
CLD18A2 (Клаудин 18.2)	Рак желудка, поджелудочной железы, пищевода, яичника или легкого
CD43	Гемобластозы, ОМЛ
NY-ESO-1/МНС I	Миелома
MPL/TPO-R	Гемобластоз, ОМЛ, МДС, ХМЛ, ОЛЛ, Миелопролиферативные заболевания, Истинная полицитемия, Миелофиброз, Эссенциальная полицитемия
P-гликопротеин (MDR1)	Рак почки, рак печени, миелома
CD179a	Гемобластозы, Острый лейкоз, ХЛЛ, ОЛЛ, Лимфома
STEAP1	Рак желудка или предстательной железы или лимфома
Liv1 (SLC39A6)	Рак молочной железы или рак предстательной железы
Нектин4 (PVRL4)	Рак мочевого пузыря, почки, шейки матки, легкого, головы и шеи или рак молочной железы
Крипто (TDGF1)	Колоректальный рак, рак эндометрия или яичников
gpA33	Колоректальный рак, рак эндометрия или яичников
FLT3	Гемобластозы, ОМЛ, ОЛЛ, МДС
BST1/CD157	Гемобластозы, ОМЛ, МДС
IL1RAP	Рак печени, колоректальный рак, рак шейки матки, легкого или яичника
Хлорный канал с низкой проводимостью (LCCC)	глиома
IgE	Аллергия
HLA-A2	Болезнь «трансплантат против хозяина», отторжение ткани (SIR экспрессируется в регуляторных Т-клетках)
амилоид	Амилоидозы, болезнь Альцгеймера
HIV1-env	HIV1/СПИД и сопутствующие состояния
HIV1-gag	HIV1/СПИД и родственные заболевания
HA гриппа А	Инфекция гриппа А
CD32b	Гемобластозы, ОМЛ, ХЛЛ, ОЛЛ, ХМЛ, миелома, лимфома
CD96	Гемобластозы, ОМЛ, В-ОЛЛ, Т-клеточная лимфома, Т-ОЛЛ, меланома
CD229	Гемобластозы, миелома, лимфома

В одном аспекте раскрытие относится к новым композициям синтетического антигенного рецептора (SAR). В другом аспекте в раскрытии предлагается новые конфигурация/архитектуры SAR. В другом аспекте в раскрытии предлагаются SAR с полезными биологическими свойствами (например, экспрессией, аффинностью связывания, эффекторными функциями и т.п.). В другом аспекте в раскрытии предлагаются SAR, способные связываться с одним или более чем одним антигеном. В другом аспекте в раскрытии предлагаются SAR, способные связываться с одним или

более чем одним эпитопом антигена.

В одном аспекте раскрытие относится к синтетическому антигенному рецептору (SAR), содержащему более одного (т.е. 2, 3, 4, 5 или более) антигенсвязывающих доменов. В другом аспекте в раскрытии предлагается SAR, способный связываться и/или отвечать более чем на один антиген или более чем на один эпитоп антигена. В другом аспекте в раскрытии предлагается биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR, способный связываться и/или отвечать более чем на один антиген или более чем на один эпитоп антигена. В другом аспекте полезные антигенсвязывающие домены для конструирования биспецифичного и/или мультиспецифичного SAR. В другом аспекте в раскрытии предлагаются полезные конфигурации (т.е. расположение разных доменов) для биспецифичного и/или мультиспецифичного SAR. Биспецифичный и мультиспецифичный SAR раскрытия при экспрессии в иммунной эффекторной клетке (например, Т-клетке, NKT-клетке или NK-клетке и т.п.) придает ей способность связываться и/или реагировать более чем на один антиген или более чем на один эпитоп антигена с почти равной или большей эффективностью по сравнению с двумя или более моноспецифичными SAR, нацеленными на те же антигены или те же эпитопы этих антигенов.

Присутствие двух или более антигенсвязывающих доменов в биспецифичном или мультиспецифичном SAR может привести к стерическим затруднениям, неспецифической агрегации, плохой экспрессии, разворачиванию белка и/или нарушению связывания антигена. Кроме того, необходимо оптимизировать расположение антигенсвязывающего домена (доменов) относительно трансмембранного домена SAR, чтобы оптимизировать передачу сигнала полученным в результате рецептором. В данной области описаны биспецифичные и мультиспецифичные CAR, включающие два или более scFv. Однако в описании указано, что присутствие более чем одного scFv (т.е. 2, 3, 4 или более) в SAR (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, zSIR, TFP или rTCR и т.п.) часто приводит к стерическим затруднениям, неспецифической агрегации, тонической передаче сигналов, плохой экспрессии, разворачиванию белка и/или вмешательству в связывание антигена, приводящему к плохой сигнальной и эффекторной функции (например, продуцированию цитокинов, цитотоксичности и т.п.). Таким образом, основной задачей при создании биспецифичных и мультиспецифичных SAR, содержащих два или более антигенсвязывающих доменов, является определение пригодных антигенсвязывающих доменов (например, scFv, Fv, Fab, vHH, FHVH, центирин, аффибоди, цитокин, рецептор, svd-TCR и т.п.), которые должны быть включены в такие SAR, чтобы уменьшить стерические затруднения, неспецифическую агрегацию, тоническую передачу сигналов,

плохую экспрессию, разворачивание белка и/или вмешательство в связывание антигена, что может привести к плохой сигнальной и эффекторной функции (например, продуцированию цитокинов, цитотоксичности и т.п.).

Вторая задача состоит в том, чтобы определить полезную конфигурацию различных антигенсвязывающих доменов, которые включают биспецифичные и мультиспецифичные SAR. Например, необходимо определить оптимальный порядок различных антигенсвязывающих доменов по отношению друг к другу и по отношению к другим компонентам SAR (например, шарнирному домену, трансмембранному домену и т.п.), чтобы уменьшить неспецифическую агрегацию, тоническую передачу сигналов, плохую экспрессию, разворачивание белка и/или вмешательство в связывание антигена, что может привести к плохой сигнальной и эффекторной функции (например, продуцированию цитокинов, цитотоксичности и т.п.) Это представляет серьезную проблему для всех SAR и особенно для многоцепочечных SAR, таких как SIR, Ab-TCR, zSIR, $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ TFP, чей антигенсвязывающий домен состоит из двух разных фрагментов (например, vL и vH, Va и Vb или Vg и Vd и т.п.). Например, присоединение второго антигенсвязывающего домена (например, scFv или домена vHH) к двухцепочечному SIR (например, CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]; SEQ ID NO: 7348), который связывается с CD19 через фрагменты vL и vH, которые функционально связаны с двумя отдельными константными цепями TCR, но соединяются с образованием Fv, который связывается с CD19, потенциально могут мешать взаимодействию между фрагментами vL и vH, что приводит к их неспособности образовывать функциональный Fv, способный связывать CD19.

Длина шарнирного домена, который определяет расстояние между антигенсвязывающим доменом и клеточной мембраной, может влиять на передачу сигнала через химерный антигенный рецептор. Таким образом, еще одна проблема в этой области заключается в том, что в настоящее время неизвестно, может ли присоединение нескольких антигенсвязывающих доменов неблагоприятно влиять на формирование эффективного иммунологического синапса и передачу сигналов через SAR за счет увеличения расстояния между антигеном-мишенью и клеточной мембраной.

Объединение нескольких антигенсвязывающих доменов в SAR может привести к стерическим затруднениям и неправильной укладке. Другая проблема в данной области заключается в том, что в настоящее время неизвестно, нужны ли линкерные домены между различными антигенсвязывающими доменами биспецифичного/мультиспецифичного SAR. Длина и природа линкерных доменов также неизвестна. Это особенно важно в случае двухцепочечного SAR (например,

двухцепочечного SIR, двухцепочечного zSIR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ TFP и т.п.), поскольку добавление неподходящего линкера потенциально может мешать взаимодействию между двумя цепями или образованию функционального Fv. Кроме того, линкер(ы) может неблагоприятно влиять на формирование эффективного иммунологического синапса и передачу сигналов через SAR, увеличивая расстояние между антигеном-мишенью и клеточной мембраной.

В одном аспекте настоящее раскрытие предлагает решение вышеупомянутых проблем.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR с одним или несколькими антигенсвязывающими доменами и одним или несколькими трансмембранными доменами. В одном воплощении в раскрытии предлагаются полезные антигенсвязывающие домены для конструирования биспецифичных и мультиспецифичных SAR.

В описании предложено несколько типичных SAR, содержащих различные антигенсвязывающие домены, шарнирные домены, линкерные домены, соединительные пептиды, трансмембранные домены, домены активации, костимулирующие домены, вспомогательные модули и терапевтические контроли и т.п. Названия и SEQ ID (DNA) и SEQ ID (PRT) примерных компонентов, которые можно использовать при построении SAR, представлены в таблицах 1-20 и 24. Названия и SEQ ID (DNA) и SEQ ID (PRT) примерных SAR представлены в таблицах 25-36 и 41-50. Целевой(ые) антиген(ы), конфигурация и состав SAR могут быть выведены из их последовательностей нуклеиновых кислот и аминокислотных последовательностей, представленных в данном раскрытии, путем выполнения поиска гомологии последовательностей для их составных модулей с применением таких программ, как BLAST. В качестве альтернативы, программное обеспечение, такое как ApE (<https://jorgensen.biology.utah.edu/wayned/ape/>), можно использовать для определения композиции различных SAR-конструкций, последовательности нуклеиновых кислот которых представлены в данном раскрытии. Наконец, специалисты в данной области техники могут определить конфигурацию и состав различных SAR раскрытия по их названиям.

В воплощении в раскрытии предлагается новый SAR с архитектурой и/или конфигурацией, представленной любым из примерных SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50. В одном воплощении в раскрытии предлагается новый SAR с составом любого из примерных SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50, или их функциональный вариант. В одном воплощении в раскрытии предлагается новый SAR по меньшей мере с 70% гомологией (например, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%

гомологии) аминокислотной последовательности любого из примерных SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50. В одном воплощении в раскрытии предлагается новый SAR по меньшей мере с 70% гомологией (например, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% гомологии) аминокислотной последовательности любой из типовых SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50, за исключением дополнительных модулей аксессуаров. Последовательности нуклеиновых кислот и аминокислот SAR в таблицах 25-36 и 41-50 включают их сигнальные пептиды. Однако, поскольку сигнальные пептиды удаляются из цепей зрелых полипептидов SAR, последовательности, кодирующие сигнальные пептиды, исключаются с целью определения гомологии. Точно так же последовательность, кодирующая дополнительные модули и/или любые линкеры расщепления (например, P2A, F2A и т.п.) или сайты расщепления фурином, исключают с целью определения гомологии последовательностей. Таким образом, в одном из воплощений настоящего изобретения предложен новый SAR с гомологией по меньшей мере 70% (например, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% гомологии) с аминокислотной последовательностью любого из примерных SAR, представленных в таблицах 25-36 и 41-50, в областях, содержащих их антигенсвязывающий(ие) домен(ы) и сигнальную(ые) цепь(и) (например, константные цепи TCR).

В одном аспекте раскрытие относится к использованию автономных антигенсвязывающих доменов (AABD), включая домены VH человека, обычно несколько доменов VH человека, в качестве структурных элементов для создания SAR с преимущественными антигенсвязывающими доменами.

Настоящее раскрытие относится в одном аспекте к автономному антигенсвязывающему домену (AABD), способам его получения и применению таких доменов для конструирования синтетических антигенных рецепторов и, возможно, терапевтических средств на основе антител. В одном воплощении домен AABD обладает повышенной стабильностью. В другом воплощении домен AABD обладает улучшенной термостабильностью. В другом воплощении домен AABD обладает улучшенной растворимостью. В другом воплощении домен AABD имеет меньшую склонность к самоагрегации. В другом воплощении домен AABD имеет улучшенную способность секретироваться во внеклеточное пространство при экспрессии в клетке млекопитающего с помощью N-концевого сигнального пептида.

В одном аспекте AABD представляет собой однодоменное антитело или фрагмент антитела. В другом аспекте AABD представляет собой одиночный переменный домен тяжелой цепи (VH или vH) (SVH-домен) или его фрагмент, который способен связывать антиген в отсутствие переменного домена легкой цепи (VL или vL). В другом аспекте

AABD представляет собой одиночный переменный домен тяжелой цепи (VH) (или SVH-домен) его фрагмента, который может экспрессироваться в виде растворимого белка в отсутствие домена vL. В другом аспекте AABD представляет собой одиночный переменный домен тяжелой цепи (VH) (или SVH-домен) или его фрагмент, который может экспрессироваться в виде секретируемого белка в отсутствие домена vL при присоединении к N-концевому секреторному сигналу. Некоторые воплощения настоящего изобретения относятся к SAR, содержащему первый AABD, причем первый AABD специфически связывается с антигеном в отсутствие второго домена.

В одном аспекте AABD представляет собой одиночный переменный домен легкой цепи (VL или vL) или SVL-домен или его фрагмент, который способен связывать антиген в отсутствие переменного домена тяжелой цепи (VH или vH). В другом аспекте AABD представляет собой один домен переменной области легкой цепи (VL) (или SVL-домен) или его фрагмент, который может экспрессироваться в виде растворимого белка в отсутствие домена vH. В другом аспекте AABD представляет собой один домен переменной области легкой цепи (VL) (или SVL-домен) или его фрагмент, который может экспрессироваться в виде секретируемого белка в отсутствие домена vH при присоединении к N-концевому секреторному сигналу.

В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, не основанный на scFv, или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой домен vHH верблюдовых или гуманизированный домен vHH или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой цитокин, или лиганд, или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой внеклеточный домен рецептора или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой T-клеточный рецептор с одним переменным доменом (TCR) или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой аутоантиген или его фрагмент.

В одном воплощении AABD представляет собой домен адаптера, домен связывания адаптера или его фрагмент. Примеры адаптеров и домена связывания адаптера включают, без ограничения указанным: домены RZIP, EZIP, E4, K4, NKG2D-YA, NKG2D-AF, D и т.п.

Термины «однодоменное антитело, одиночный переменный домен или одиночный переменный домен иммуноглобулина (ISV)» хорошо известны в данной

области и описывают один переменный фрагмент антитела, который связывается с антигеном-мишенью. Термины «CD80», «B7-1» и «B7.1» используются в данном документе взаимозаменяемо. Как объяснено ниже, предпочтительные воплощения различных аспектов изобретения относятся к SAR, содержащим одиночные переменные домены тяжелой цепи антитела/тяжелой цепи иммуноглобулина, обозначенные доменами SVH, которые связываются с различными антигенами, такими как CD19, CD20, CD22, BCMA, CD38, MPL, CD123, CD33, мезотелин, Her2, CS1/SLAMF7, CD30, GD2, GD3, FLT3, ROR1, CD79b, Lym1, Lym2, PSCA, PSMA, ALK, CD138, CEA, FAP, TAJ, CD229, IL13Ra2, CD32b, GPC3, Muc16 и KIR3DL2 в отсутствие легкой цепи. Особенно предпочтительными являются антитела человека с одним переменным доменом тяжелой цепи.

Таким образом, в некоторых предпочтительных воплощениях SAR раскрытия содержат связывающий домен, который содержит однодоменное антитело или состоит из него, причем указанный домен представляет собой одиночный переменный домен тяжелой цепи человека (SVH). Таким образом, в предпочтительном аспекте SAR раскрытия содержат один или несколько связывающих доменов, которые не содержат доменов VL.

Таким образом, в некоторых предпочтительных воплощениях SAR раскрытия содержат связывающий домен, который содержит или состоит из однодоменного антитела, где указанный домен представляет собой домен vHH (или VHH) верблюдовых или гуманизированный домен vHH.

При использовании в данном документе, домен VH представляет собой домен VH человека или домен VH не человека. Термин «домен VH человека» включает домен VH, который получен из аминокислотной или нуклеиновой последовательности домена VH человека или основан на ней. Таким образом, этот термин включает переменные области тяжелой цепи, полученные из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Используемый в настоящей заявке термин «домен VH человека» включает домены VH, выделенные из трансгенных мышей, экспрессирующих гены иммуноглобулина V человека, в частности, в ответ на иммунизацию интересующим антигеном, например, как описано в WO 2016/062990. Такие домены обычно полностью принадлежат человеку. В одном воплощении домен VH человека может также включать домен VH, который получен или основан на аминокислотной последовательности домена VH человека или последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей такой домен VH. Таким образом, этот термин включает переменные области тяжелой цепи, происходящие из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека

или кодируемые ими. По существу домен VH человека или домен VH, полученный из домена VH человека или основанный на нем, может включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные *in vitro*, например, путем случайного или сайт-специфичного мутагенеза, или введенные в результате соматической мутации *in vivo*). Таким образом, термин «домен VH человека» также включает по существу домен VH человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков были модифицированы. Например, по существу человеческий домен VH может включать до 10, например, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных модификаций по сравнению с полностью человеческой последовательностью.

Используемый в данном документе термин VH, V_H или «вариабельный домен» относится к вариабельным доменам иммуноглобулина, определенным Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, 5th ed., U.S. Dept. Health & Human Services, Washington, D.C. (1991). Нумерация и расположение аминокислотных остатков CDR в пределах вариабельных доменов соответствует хорошо известному соглашению о нумерации Kabat.

В одном аспекте новый AABD из SAR представляет собой одиночный вариабельный домен тяжелой цепи (VH) или SVH-домен. Термин «SVH-домен», используемый в настоящей заявке, относится к антителу с одним доменом VH человека (VH sdAb). Таким образом, эти термины используются взаимозаменяемо. Термин SVH также используется взаимозаменяемо с независимыми доменами vH или автономными доменами vH. Раскрытие относится к использованию человеческих, как правило, нескольких SVH-доменов человека в качестве структурных элементов для создания SAR.

SVH-домены представляют собой небольшие молекулы размером 12-14 кДа, которые можно объединять в различные форматы для получения поливалентных или мультиспецифичных антигенсвязывающих доменов SAR. SVH-домены являются надежными и характеризуются высокой аффинностью и стабильностью в сыворотке. SVH-домены также характеризуются высокой растворимостью в сыворотке крови и отсутствием агрегации.

Каждое антитело с одним доменом VH (SVH) содержит три CDR и четыре FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Таким образом, в одном воплощении изобретения домен представляет собой домен вариабельной области тяжелой цепи (VH) человека со следующей формулой FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

В одном из воплощений в настоящем изобретении предлагаются одноцепочечные и

многоцепочечные SAR (например, SIR, сTCR Ab-TCR, TCR, $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ TFP и т.п.), которые можно сконструировать с применением SVH-доменов, имеющих замену W103R в соответствии с системой Kabat. Примерный SVH, нацеленный на CD19 с заменой W103R, представляет собой CD19-FHVN-354 и представлен SEQ ID NO (DNA): 836 и SEQ ID NO (PRT): 11526 (таблица 5). Дополнительные примерные AABD, содержащие SVH с заменой W103R, перечислены в таблице 5.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются многоцепочечные SAR (например, SIR, сTCR Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP или рекомбинантный TCR и т.п.), имеющие биспецифичные, бивалентные или бипаратопные антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат домены SVH с заменой W103R в соответствии с системой Kabat. Примеры SAR, нацеленные на различные антигены на основе каркаса SIR и содержащие CD19-FHVN-354 в качестве одного из антигенсвязывающих доменов, представлены в таблице 25.

В другом воплощении раскрытие относится к многоцепочечным SAR (например, SIR, сTCR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP или рекомбинантному TCR и т.п.), имеющим полиспецифичные, поливалентные или мультипаратопные антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат домены SVH с заменой W103R в соответствии с системой Kabat. Примеры биспецифичных и триспецифичных SAR, нацеленных на разные антигены, основанные на каркасах SIR, zSIR и Ab-TCR и содержащие CD19-FHVN-354 в качестве одного из антигенсвязывающих доменов, представлены в таблице 26. Поскольку AABD являются модульными по своей природе, CD19-FHVN-354 можно заменить другими AABD, нацеленными на другие антигены, для разработки SAR, нацеленных на эти антигены.

В другом воплощении раскрытие относится к одноцепочечным SAR (например, SAR, TFP и т.п.), имеющим биспецифичные, двухвалентные или бипаратопные антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат SVH с заменой W103R в соответствии с системой Kabat. Примерный одноцепочечный биспецифичный SAR, нацеленный на CD22 и CD19, содержащий CD22-FHVN-24 в качестве одного из антигенсвязывающих доменов, представляет собой CD8SP-CD22-FHVN-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Myc-28z (SEQ ID NO (DNA): 4118 и SEQ ID NO (PRT): 14808). В этой SAR-конструкции CD22-FHVN-24 функционально связан с N-концом scFV hu-mROO5-1 через глицин-сериновый (G4Sx3) линкер. scFV объединен в рамке считывания с шарнирным и трансмембранным доменом CD28 человека через линкер Myc. SAR также несет домен активации CD3z на своем C-конце. SAR с аналогичной модульной архитектурой также входят в объем настоящего раскрытия.

В другом воплощении раскрытие относится к одноцепочечным SAR (например, CAR, TFP и т.п.), имеющим мультиспецифичные, поливалентные или мультипаратопные антигенсвязывающие фрагменты, содержащие SVH с заменой W103R в соответствии с системой Kabat.

В одном воплощении раскрытие предусматривает, что одноцепочечные и многоцепочечные SAR могут быть сконструированы с применением SVH, стабилизированного введением неканонических цистеинов, которые способны образовывать дисульфидные связи и/или образовывать дисульфидные мостики в подходящих условиях. Примерный SVH, содержащий неканонические цистеины, представляет собой CEA-300-aVH и представлен в SEQ ID NO (DNA): 954 и SEQ ID NO (PRT): 11644. Дополнительные примеры таких SVH представлены в WO 2019149715, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой. Примерный SAR, включающий CEA-300-aVH, представлен SEQ ID NO: 21956.

В одном воплощении настоящее изобретение направлено на смягчение недостатков существующих адоптивных клеточных методов лечения путем предоставления одноцепочечных SAR (например, CAR, TFP и т.п.), содержащих SVH, где домены SVH содержат замещенные цистеины в положениях (i) 52а и 71 или (ii) 33 и 52 по нумерации Kabat, где указанные цистеины способны образовывать дисульфидную связь и/или образовывать дисульфидную связь в подходящих условиях.

В воплощении изобретения домен SVH, используемый для получения SAR, содержит замену, выбранную из группы, состоящей из 44E, 45E, 45R, (101-1)Y и 101D в соответствии с нумерацией Kabat. В частности, SVH содержит замены 44E, 45E или 45R, (101-1)Y и 101D в соответствии с нумерацией Kabat. В одном воплощении домен SVH содержит замену, выбранную из группы, состоящей из G44E, T45E, T45R, F(101-1)Y и A101D в соответствии с нумерацией Kabat. В одном воплощении домен SVH содержит замены G44E, T45E, T45R, F(101-1)Y и A101D в соответствии с нумерацией Kabat.

В воплощении изобретения SAR содержит SVH с заменой, выбранной из группы, состоящей из 44E, 45E и (101-1)Y, в соответствии с нумерацией Kabat. В одном воплощении SAR содержит домен SVH с заменами 44E, 45E и (101-1)Y в соответствии с нумерацией Kabat. В одном воплощении домен SVH содержит замену, выбранную из группы, состоящей из G44E, T45E и F(101-1)Y, в соответствии с нумерацией Kabat, если она присутствует в домене SVH. В одном воплощении SAR содержит домен SVH, содержащий замены G44E, T45E и F(101-1)Y в соответствии с нумерацией Kabat.

В одном воплощении домен SVH из SAR содержит каркас vH, включающий FR1, FR2, FR3 и FR4, по меньшей мере на 85% идентичных аминокислотной

последовательности SEQ ID NO: 21411, 21412, 21413 и 21414, соответственно.

В одном воплощении домен SVH из SAR содержит каркас vH, включающий FR1, FR2, FR3 и FR4, последовательность которых по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21415, 21416, 21417 и 21418, соответственно.

В одном воплощении домен SVH из SAR содержит каркас vH, включающий FR1, FR2, FR3 и FR4, последовательность которых по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21419, 21420, 21421 и 21422, соответственно.

В одном из воплощений настоящего изобретения домен SVH в SAR содержит каркас vH, включающий FR1, FR2, FR3 и FR4 по меньшей мере с 85% идентичностью последовательности аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21423, 21424, 21425 и 21426, соответственно.

В одном из воплощений настоящего изобретения домен SVH содержит каркас vH, включающий FR1, FR2, FR3 и FR4, последовательность которых по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21427, 21428, 21429 и 21430, соответственно.

В одном из воплощений настоящего изобретения домен SVH содержит каркас vH, включающий FR1, FR2, FR3 и FR4, последовательность которых по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21431, 21432, 21433 и 21434, соответственно.

В одном воплощении домен SVH содержит каркасную область vH, включающую FR1, FR2, FR3 и FR4, последовательность которых по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21435, 21436, 21437 и 21438, соответственно.

В одном воплощении домен SVH содержит каркасную область vH, включающую FR1, FR2, FR3 и FR4, последовательность которых по меньшей мере на 85% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21439, 21440, 21441 и 21442, соответственно.

Домен SVH особенно полезен для конструирования SAR, поскольку FR1-4 в соответствии с SEQ ID NOs 21411-21442 не являются иммуногенными для человека.

Изобретение также относится к использованию человеческих, как правило, нескольких SVH-доменов человека в качестве структурных элементов для создания SAR. Термин «SVH-домен», используемый в настоящей заявке, относится к антителу с одним доменом VH человека (VH sdAb). Таким образом, эти термины используются

взаимозаменяемо. Термин SVH также используется взаимозаменяемо с независимыми доменами vH или автономными доменами vH. SVH представляет собой тип AABD.

SVH-домены представляют собой небольшие молекулы размером 12-14 кДа, которые можно объединять в различные форматы для получения поливалентных или мультиспецифичных антигенсвязывающих доменов SAR. SVH-домены являются надежными и характеризуются высокой аффинностью и стабильностью в сыворотке. SVH-домены также характеризуются высокой растворимостью в сыворотке крови и отсутствием агрегации.

В некоторых воплощениях SAR-конструкции, описанные в настоящей заявке, включают домен SVH человека (как правило, несколько SVH-доменов человека), который распознает представляющий интерес белок-мишень, например, белок, экспрессируемый на опухолевой клетке, такой как антиген.

В некоторых воплощениях SAR-конструкции, описанные в настоящей заявке, включают SVL-домен человека (как правило, несколько SVL-доменов человека), который распознает интересующий белок-мишень, например, белок, экспрессируемый на опухолевой клетке, такой как антиген. Термин «SVL-домен», используемый в данном документе, относится к антителу с одним доменом VL человека (VL sdAb). Таким образом, эти термины используются взаимозаменяемо. Термин SVL также используется взаимозаменяемо с независимыми доменами vL или автономными доменами vL. SVL представляет собой тип AABD.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой домен vHH верблюдовых. Изобретение также относится к SAR, содержащему несколько доменов vHH. Изобретение также относится к SAR, содержащему гуманизированные домены vHH. Примеры доменов vHH, которые можно использовать при конструировании SAR раскрытия, и их антигены-мишени представлены в таблице 5.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, такой как дарпин, аффибоди, аффилин, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атример, центирин, пронектин, антикалин, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo, домен D или их фрагмент. Изобретение также относится к SAR, содержащему множество неиммуноглобулиновых антигенсвязывающих остовов. Примеры неиммуноглобулиновых антигенсвязывающих остовов, которые можно использовать при конструировании SAR раскрытия и их антигенов-мишеней, представлены в таблицах 7-9.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой домен связывания адаптера (например, RZIP, EZIP, E4, K4, NKG2D-AF, NKG2D-YA или домен D и т.п.). Раскрытие

также включает SAR, которые связываются с несколькими адаптерами. В одном воплощении домен связывания адаптера представляет собой домен лейциновой молнии. В одном аспекте AABD из SAR связывается с адаптером (например, RZIP, EZIP, E4, K4, доменом D, Strep-меткой, FITC, биотином, ULBP2R, ULBP2-S3 и т.п.). Специалистам в данной области понятно, что адаптер и белок, связывающий адаптер, могут заменять друг друга. Таким образом, SAR может содержать модуль RZIP, который связывается с адаптером SAR, содержащим модуль EZIP. Альтернативно, SAR может содержать модуль EZIP, тогда как адаптер SAR может содержать модуль RZIP. Раскрытие также включает SAR, которые связываются с несколькими адаптерами. Примеры адаптеров и белков, связывающих адаптер, показаны в таблице 10.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой внеклеточный лиганд-связывающий домен рецептора или его фрагмент. В раскрытие также включены SAR, которые содержат несколько внеклеточных лиганд-связывающих доменов рецепторов. Примеры внеклеточных лиганд-связывающих доменов рецепторов, которые можно использовать при конструировании SAR, представлены в таблице 8.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой внеклеточный рецептор-связывающий домен лиганда или цитокина или его фрагмента. В раскрытие также включены SAR, которые содержат множество доменов связывания внеклеточных рецепторов лигандов или цитокинов. Примеры внеклеточных рецептор-связывающих доменов лигандов или цитокинов, которые можно использовать при конструировании SAR, представлены в таблице 9.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой аутоантиген. В раскрытие также включены SAR, которые содержат несколько аутоантигенов. Примером аутоантигена, который можно использовать в конструировании SAR, является Dsg3 (SEQ ID NO: 11687) или его фрагмент.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой одиночный варибельный домен Т-клеточного рецептора (svd-TCR). В раскрытие также включены SAR, которые содержат несколько одиночных варибельных доменов Т-клеточных рецепторов. Примеры полинуклеотидов, содержащих домены svd-TCR, представлены SEQ ID NO (DNA): 21563-21564 и в WO2021030182, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой.

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой любой белок, который может связываться с антигеном, экспрессируемым на поверхности клетки.

Множественные AABD в SAR могут присутствовать в различных комбинациях (например, два центрина, один центрин и один домен vHH, домен vHH и домен SVH, а

также домен центрина и т.п.).

В одном аспекте AABD из SAR представляет собой центрин. Изобретение также относится к SAR, содержащему несколько центринов. В одном аспекте AABD из SAR представляет собой дарпин. Настоящее раскрытие также относится к SAR, содержащему несколько дарпин. Аналогичным образом, раскрытие относится к SAR, содержащим множество неиммуноглобулиновых антигенсвязывающих доменов, таких как аффибоди, аффилины, аднектины, аффитины, ободи, репободи, финомеры, альфабоди, авимеры, атримеры, пронектины, антикалины, домены Кунитца, белки с повторами Armadillo.

В некоторых воплощениях SAR содержит несколько AABD. В одном воплощении первый AABD связан со вторым AABD, при этом первый и второй AABD специфически связывают антигены. В одном воплощении антигены, распознаваемые SAR, представляют собой пептидные антигены, которые связаны с комплексом МНС. В некоторых воплощениях два или более AABD из SAR распознают один и тот же антиген. В других воплощениях два или более AABD из SAR распознают разные антигены.

В то время как scFv, обычно используемые в SAR, такие как CAR 2-го поколения, обладают потенциалом нежелательной агрегации, образования кластеров и иммуногенности, применение автономных антигенсвязывающих доменов (AABD) обеспечивает стабильный формат со значительно сниженным потенциалом иммуногенности, неспецифичности, агрегации или разворачивания. Это особенно полезно при разработке SAR, содержащих биспецифичные, двухвалентные или бипаратопные антигенсвязывающие фрагменты. Как продемонстрировано в данном документе изобретателями, несколько доменов AABD могут быть легко использованы в таком мутимерном формате, что облегчает создание мультиспецифичных SAR, которые обеспечивают одновременное нацеливание на более чем один антиген-мишень или более чем на один эпитоп антигена.

В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, который может быть нацелен на один или более чем 1 антиген (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более антигенов). В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, который может быть нацелен на один или более чем 1 эпитоп (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более эпитопов). В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, которые содержат один или более чем 1 антигенсвязывающий домен (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более антигенсвязывающих доменов).

В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, который содержит одну или более чем одну цепь, причем каждая цепь содержит ноль, один или более антигенсвязывающих доменов, функционально связанных с трансмембранным доменом,

необязательным доменом активации и необязательным костимулирующим доменом. В одном воплощении домен активации кодирует один или несколько мотивов ITAM.

В одном воплощении в раскрытии предлагается одноцепочечный SAR, который содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов, функционально связанных с трансмембранным доменом, доменом активации и дополнительным костимулирующим доменом. В одном воплощении домен активации кодирует один или несколько мотивов ITAM. Примером такого SAR является SAR, представленный каркасом из CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, CAR 3-го поколения или ϵ TFP, γ TFP, δ TFP или ζ TFP. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (DNA): 4087, 4110-4113, 4118-4120, SEQ ID NO (PRT): 14777, 14800-14803 и 14808-14810.

В раскрытии также предлагаются одноцепочечные SAR на основе каркасов CAR 2-го поколения, K13-CAR и TFP (например, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ) (таблицы 33 и 34). В раскрытии предлагаются одноцепочечные SAR с модульной доменной структурой и архитектурой примерного SAR на каркасе CAR 2-го поколения, нацеленного на BCMA и CD19, представленного CD8SP-BCMA-FHVN-93-SG4S-CD19-FHVN-354-Мус-28z. (SEQ ID NO: 17667). Другой примерный SAR на каркасе CAR 2-го поколения, нацеленный на BCMA и CD19, представляет собой CD8SP-CD19-FHVN-354-SG4S-BCMA-FHVN-93-Мус-CD8TM-BBz (SEQ ID NO: 17669). Примерами SAR на каркасах TFP, нацеленных на BCMA и CD19, являются CD8SP-BCMA-FHVN-93-SG4S-CD19-FHVN-354-CD3 ϵ -ECDTMCP-opt2 (SEQ ID NO: 17696), CD8SP-BCMA-FHVN-93-SG4S-CD19-FHVN-354-CD3d-ECDTMCP-opt2 (SEQ ID NO: 17697) и CD8SP-BCMA-FHVN-93-SG4S-CD19-FHVN-354-CD3g-ECDTMCP-opt2 (SEQ ID NO: 17698). В раскрытии предлагаются одноцепочечные SAR с модульной структурой домена и архитектурой дополнительных типовых SAR на каркасе TFP, нацеленных на BCMA и CD19, как представлено в SEQ ID NO: 17700-17703.

В раскрытии предлагаются одноцепочечные SAR с модульной доменной структурой и архитектурой примерных SAR на каркасе CAR 2-го поколения, нацеленных на CD20 и CD22, представленных CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD22-USC1-FHVN-160-Мус-28z и CD8SP-CD22-USC1-FHVN-160-SG4S--CD20-vHH-USC1-2HC2D6-Мус-CD8TM-BBz, которые представлены SEQ ID NO: 17813 и 17815. В раскрытии предлагаются SAR с модульной доменной структурой и архитектурой примерного SAR на каркасе CAR 1-го поколения, коэкспрессирующего K13 и нацеленного на CD20 и CD22, представленного CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD22-USC1-FHVN-160-Мус-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC (SEQ ID NO: 17816). В раскрытии предлагаются SAR с модульной структурой домена и архитектурой примерных SAR на каркасе TFP,

нацеленных на CD20 и CD22, представленных в SEQ ID NO: 17842-17849.

Примерными SAR на каркасе CAR 2-го поколения, нацеленными на BCMA и CD38, представляют собой CD8SP-BCMA-FHVH-74-SG4S-CD38-FHVH-USC1-32184-Мус-28z и CD8SP-CD38-FHVH-USC1-32184-SG4S-BCMA-FHVH-74-Мус-CD8TM-BBz, которые представлены SEQ ID NO: 17886 и 17888. Примерный SAR на каркасе CAR 1-го поколения, коэкспрессирующий K13 и нацеленный на BCMA и CD38, представляет собой CD8SP-BCMA-FHVH-74-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD38-FHVH-USC1-32184-[hTCRa-T48C]-F-F2A-K13-opt (SEQ ID NO: 17893). Примерные SAR на каркасе TFP, нацеленные на BCMA и CD38, представлены SEQ ID NO: 17915-17922.

Примерные SAR на каркасе CAR 2-го поколения, нацеленные на CD20 и CD19, представляют собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD19-FHVH-354-Мус-28z и CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD19-FHVH-354-Мус-CD8TM-BBz, и представлены SEQ ID NO: 17959-17960. Примерный SAR на каркасе CAR 1-го поколения, коэкспрессирующий K13 и нацеленный на CD20 и CD19, представляет собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-SG4S-CD19-FHVH-354-Мус-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC (SEQ ID NO: 17962). Примерные SAR на каркасе TFP, нацеленные на BCMA и CD38, представлены SEQ ID NO: 17988-17995.

Примерами SAR на каркасе CAR 2-го поколения, нацеленными на CD22 и CEA, являются CD8SP-CD22-FHVH-24-SG4S-CEA-aVH-3001-Мус-28z и CD8SP-CD22-FHVH-24-SG4S-CEA-aVH-3001-Мус-CD8TM-BBz и представлены SEQ ID NO: 17521-17522. Примерный CAR 1-го поколения, коэкспрессирующий K13 и необязательный модуль PAC и нацеленный на CD22 и CEA, представляет собой CD8SP-CD22-FHVH-24-SG4S-CEA-aVH-3001-Мус-CD8TM-z-P2A-K13-FLAG-T2A-PAC (SEQ ID NO: 17524). Примерные SAR на каркасе TFP, нацеленные на CD22 и CEA, представлены SEQ ID NO: 17550-17557.

Примерный двухцепочечный SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленный на CD20 и CD22, представляет собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-IgG1-Hinge-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-USC1-FHVH-160-IgG1-Hinge-v2-[TCRd-6MD] и представлен SEQ ID NO: 17883. Примерные SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленные на CD20 и CD22, представляют собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-CD22-USC1-FHVH-160-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] (SEQ ID NO: 17868) и CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-USC1-FHVH-160-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] (SEQ ID NO: 17877). Примерные SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленные на BCMA и CD38, представляют собой CD8SP-BCMA-FHVH-74-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD38-FHVH-USC1-32184-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] и CD8SP-BCMA-FHVH-74-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-CD38-FHVH-USC1-32184-[IgG1-CH1-

TCRa-wt-op2-6MD] и представлены SEQ ID NO: 17912 и 17914. Примерные SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленные на CD20 и CD19, представляют собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-CD19-FHVVH-354-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] и CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD19-FHVVH-354-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] и представлены SEQ ID No: 18016 и 18023, соответственно. Поскольку SAR являются модульными по своей природе, AABD вышеупомянутых SAR можно заменить на AABD, нацеленные на разные антигены, для разработки SAR, нацеленных на эти антигены. В таблице 33 представлены названия, модульный состав и SEQ ID NO для SAR, нацеленных на CD22 и PSMA. В таблице 34 представлены SEQ ID No для SAR, полученных из SAR, перечисленных в таблице 33, путем замены AABD, нацеленного на CD22 (т.е. CD22-FHVVH-24) и PSMA (т.е. PSMA-chVH-71v2), на AABD, нацеленный на другие антигены. В остальном порядок конструкций в таблице 34 такой же, как порядок конструкций в таблице 33.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается синтетический антигенный рецептор, содержащий (а) одну или несколько антиген-специфичных нацеливающих областей, (b) по меньшей мере один внеклеточный линкерный домен, (с) по меньшей мере один трансмембранный домен, (d) необязательное ко-стимулирующий домен и (е) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, где один антиген-специфичный нацеливающий домен содержит антиген-специфичный фрагмент одноцепочечного Fv (scFv), а второй антиген-специфичный нацеливающий домен содержит AABD. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVVH, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.).

В одном из воплощений в раскрытии предлагается биспецифичный или мультиспецифичный рецептор синтетического антигена, содержащий (а) по меньшей мере две антиген-специфичные нацеливающие области, (b) по меньшей мере один внеклеточный линкерный домен, (с) по меньшей мере один трансмембранный домен, (d) необязательный костимулирующий домен и (е) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, где один антиген-специфичный нацеливающий участок содержит антиген-специфичный фрагмент одноцепочечного Fv (scFv), а второй антиген-специфичный нацеливающий домен содержит AABD. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVVH, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.). В одном воплощении в раскрытии предлагается биспецифичный или мультиспецифичный синтетический антигенный

рецептор, имеющий общую формулу: (AABD) n -необязательный линкерный домен-scFv-шарнирный домен-трансмембранный домен-необязательный один или несколько костимулирующих доменов-доменов активации; где $n=0, 1, 2, 3, 4, 5$ или больше и где домен активации может содержать один или несколько мотивов ITAM. Такой примерный SAR представлен IgSP-Ара-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-Gly-Ser-Линкер-vL-Мус-CD8TM-BBz и имеет SEQ ID NO (DNA): 4087. Этот SAR имеет один антигенсвязывающий домен, представленный гуманизированным scFv hu-mROO5-1, который нацелен на CD19, и второй антигенсвязывающий домен, представленный CD20-vHH-2HCD25, который нацелен на CD20. Два антигенсвязывающих домена связаны гибким линкером Gly-Ser (G4Sx3v2). Эта SAR-конструкция также содержит метку Мус, шарнирный и трансмембранный домен CD8 человека, костимулирующий домен 4-1BB и домен активации CD3z. Другие примеры таких конструкций представлены SAR с каркасом из CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, CAR 3-го поколения или ϵ TFP, γ TFP, δ TFP или ζ TFP. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (DNA): 4087, 4110-4113, 4118-4120, SEQ ID NO (PRT): 14777, 14800-14803 и 14808-14810.

В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, который содержит одну или более чем одну цепь, причем каждая цепь содержит ноль, один, два или более антигенсвязывающих доменов, функционально связанных с трансмембранным доменом, но не имеющих домена активации. Хотя такой SAR не имеет собственного активационного домена, он способен к передаче сигнала за счет рекрутирования сигнального модуля, содержащего белок (белки), который(ые) кодируют домен активации. Примером такого SAR является SAR, основанный на каркасе SIR, cTCR, Ab-TCR, TCR, $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ TFP. В примерном воплощении в раскрытии предлагается SAR, в котором один или несколько AABD присоединены к N-концу или вблизи N-конца одной или обеих цепей SIR, cTCR, Ab-TCR, TCR, $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ TFP. В примерном воплощении в раскрытии предлагается SAR, в котором один или несколько AABD присоединены к N-концу или вблизи N-конца фрагментов vL или vH, содержащих одну или обе цепи SIR, cTCR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ TFP. В примерном воплощении в раскрытии предлагается SAR, в котором один или несколько AABD присоединены к N-концу или вблизи N-конца фрагментов Va, Vb, Vg или Vd, содержащих одну или обе цепи TCR. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (DNA): 4087, 4110-4113, 4118-4120, SEQ ID NO (PRT): 14777, 14800-14803 и 14808-14810. Дополнительные примеры таких SAR представлены в таблицах 25-32. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVH, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP,

EZIP, E4, K4, домен D и т.п.).

В одном из воплощений в раскрытии предлагается одноцепочечный, полуторацепочечный или двухцепочечный SAR, содержащий по меньшей мере одну цепь, имеющую общую формулу: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-scFv-необязательный линкер-константная цепь TCR; где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ , пре-TCR α или их мутант или вариант. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (DNA): 4127 и 4128 и SEQ ID NO (PRT): 14817-14818. В одном воплощении scFv заменен одноцепочечным растворимым TCR, содержащим фрагменты Va и Vb α TCR, соединенные гибким линкером, или фрагменты Vg и Vd, полученные из $\gamma\delta$ TCR, соединенные гибким линкером.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается полуторный SAR или двухцепочечный SAR, содержащий одну цепь, которая имеет общую формулу: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-scFv-необязательный линкер-константная цепь TCR; и вторую цепь, которая имеет общую формулу (AABD) n-необязательный линкерный домен-константная цепь TCR, где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α (C α), TCR β 1 (C β 1), TCR β 2 (C β 2), TCR γ (C γ), TCR δ (C δ) или пре-TCR α (пре-C α), или их мутант или вариант. В воплощении две цепи SAR содержат комплементарные константные цепи TCR; то есть C α и C β , пре-C α и C β или C γ и C δ . Цепь C β может представлять собой либо C β 1, либо C β 2. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (DNA): 4127 и 4128 и SEQ ID NO (PRT): 14817-14818. В одном воплощении scFv заменен одноцепочечным растворимым TCR.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается полуторацепочечный синтетический антигенный рецептор, содержащий две константные цепи TCR или их фрагмент, где одна из цепей содержит AABD, соединенный с помощью необязательного линкера с антигенспецифическим одноцепочечным фрагментом Fv (scFv), которая, в свою очередь, присоединена к константной цепи TCR или ее фрагменту, и вторая цепь содержит комплементарную константную цепь TCR ее фрагменту. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVH, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.). Такой примерный SAR представлен CD8SP-MYC-[hTCR α -T48C-opt1]-F-F2A-SP-CD22-FHVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-V5-[hTCR β -S57C-opt1]-F-P2A-PAC и имеет SEQ ID NO (DNA): 4128 и SEQ ID NO (PRT): 14818. Этот SAR имеет каркас полуторацепочечного SIR (см. WO2018102795) и содержит одну цепь, кодирующую метку

МУС, соединенную в рамке считывания с мутированной константной цепью TCR α человека (hTCRa-T48C-opt1; SEQ ID NO: 11738). Вторая цепь этого SAR содержит один антигенсвязывающий домен, представленный scFv hu-mROO5-1 (SEQ ID NO (DNA): 633 и SEQ ID NO (PRT): 11323), который нацелен на CD19, и второй AABD, представленный полностью человеческим доменом vH CD22-FHVN-24, который нацелен на CD22 (SEQ ID NO (DNA): 843 и SEQ ID NO (PRT): 11533). Два антигенсвязывающих домена связаны гибким линкером Gly-Ser (G4Sx3v2). scFv hu-mROO5-1 соединен в рамке считывания с мутированной константной цепью TCR β человека, несущей модуль мутации S57C (hTCRb-S57C-opt1; SEQ ID NO (PRT): 11749) посредством метки V5. Две цепи кодируются одним полинуклеотидом и разделены расщепляемым линкером P2A. SAR также кодирует ген устойчивости к пурамицину (PAC), который является необязательным. Другая такая типовая SAR-конструкция представлена CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVN-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu- mROO5-1-vH-Мус-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC и представлен SEQ ID NO (DNA): 4127 и SEQ ID NO (PRT): 14817. Этот SAR также имеет каркас полторацепочечной SIR (см. WO2018102795) и содержит одну цепь, кодирующую метку V5, соединенную в рамке считывания с мутированной константной цепью TCR β человека (hTCRb-KACIAH; SEQ ID NO: 11750). Вторая цепь этого SAR содержит один антигенсвязывающий домен, представленный scFv hu-mROO5-1, который нацелен на CD19, и второй антигенсвязывающий домен, представленный CD22-FHVN-24, который нацелен на CD22. Два антигенсвязывающих домена связаны гибким линкером Gly-Ser (G4Sx3v2). Гуманизированный scFv hu-mROO5-1 присоединен в рамке считывания к модулю мутантной константной цепи TCR α человека (hTCRa-CSDVP; SEQ ID NO: 11734) посредством эпитопной метки Мус.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается биспецифичный синтетический антигенный рецептор, содержащий (a) по меньшей мере две антиген-специфичные нацеливающие области, (b) по меньшей мере один внеклеточный линкерный домен, (c) по меньшей мере один трансмембранный домен, (d) необязательный костимулирующий домен и (e) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, где антиген-специфичные нацеливающие домены содержат AABD. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVN, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.). Примером такого SAR является CD8SP-CD22-FHVN-24-SG4S-PSMA-chVH-71v2-Мус-CD8TM-BBz-T2A-PAC (SEQ ID NO: 6464), который содержит сигнальный пептид CD8, CD22, нацеленный на полностью

человеческий домен vH (FVHV), линкер Ser-Glyx4-Ser, PSMA, нацеленный на одиночный домен vH, метку Мус, шарнирную и трансмембранную область CD8, костимулирующий домен 4-1BB и домен активации CD3.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается одноцепочечный, полторацепочечный или двухцепочечный SAR, содержащий по меньшей мере одну цепь, которая имеет общую формулу: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-vL или фрагмент vH-необязательный линкер-константа TCR. цепь; где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α , или их мутант, или вариант.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается двухцепочечный SAR, содержащий одну цепь общей формулы: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-фрагмент vL-необязательный линкер-константная цепь TCR; и вторую цепь, которая имеет общую формулу; (AABD)_n-необязательный линкерный домен-фрагмент vH-необязательный линкер-константная цепь TCR, где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α (C α), TCR β 1 (C β 1), TCR β 2 (C β 2), TCR γ (C γ), TCR δ (C δ) или пре-TCR α (пре-C α), или их мутант, или вариант. В воплощении две цепи SAR содержат комплементарные константные цепи TCR; то есть C α и C β , preTCR α и C β или C γ и C δ . Цепь C β может представлять собой либо C β 1, либо C β 2.

В одном воплощении в раскрытии предлагается двухцепочечный биспецифичный синтетический антигенный рецептор, содержащий две цепи, каждая из которых содержит (a) одну или несколько антиген-специфичных областей-мишеней, (b) по меньшей мере один внеклеточный линкерный домен, (c) по меньшей мере один трансмембранный домен, (d) необязательный костимулирующий домен и (e) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, где одна антиген-специфичная нацеливающая область содержит vL и/или фрагмент vH, который способен объединяться с фрагментом vH и/или vL присутствует во второй цепи для создания вариабельного фрагмента (Fv), а второй антиген-специфичный нацеливающий домен содержит AABD (например, vHH, SVH, центирин, аффибоди и т.п.). В одном воплощении Fv связывается с антигеном. В другом воплощении Fv не связывается с антигеном. В одном воплощении Fv служит каркасом для присоединения второго антиген-специфичного нацеливающего домена, содержащего AABD. В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, отличный от scFv.

Примерный двухцепочечный биспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCR β -S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-

vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1- vH-[hTCRa-T48C] и представлен SEQ ID NO (DNA): 7406 и SEQ ID NO (PRT): 18096. Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR, который был описан в WO 2018102795 и полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Одна цепь SAR-конструкции содержит гуманизированный фрагмент vL hu-mROO5-1, объединенный с константной цепью человеческого TCRb, несущего мутацию S57C (hTCRb-S57C), а другая цепь SAR содержит гуманизированный фрагмент vH hu-mROO5-1, объединенный с константной цепи TCRA человека, несущей мутацию T48C (hTCRa-T48C). Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH из SAR вместе образуют Fv, нацеленный на CD19. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-USC1-vHH-2HCD26; SEQ ID NO: 841), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через Fv hu-mROO5-1 и нацеливается на CD20 через CD20-USC1-vHH-2HCD26. Следует отметить, что SAR имеют модульный формат. Следовательно, можно заменить один модуль SAR другим модулем. Например, фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH могут быть заменены фрагментом vL/vH, нацеленным на другой антиген. В таблице 25 представлены антигены-мишени, названия, SEQ ID NO нуклеиновых кислот и SEQ ID NO аминокислот нескольких типичных биспецифичных SAR на каркасе SIR, содержащих фрагменты vL/vH, нацеленные на разные антигены, а также содержащие SVH, нацеленные на CD19 (CD19-FHVN-354). В SAR, перечисленных в таблице 25, фрагмент vL функционально связан с цепью hTCRb-S57C, а фрагмент vH функционально связан с цепью hTCRa-T48C. Могут быть сконструированы SAR, в которых фрагмент vL функционально связан с цепью hTCRa-T48C, цепь hTCRb-S57C, а фрагмент vH функционально связан с цепью hTCRb-S57C. Примеры таких SAR-конструкций, нацеленных на разные антигены, представлены SEQ ID NO (DNA): 2014-2177 и SEQ ID NO (PRT): 12704-12868. Порядок фрагментов vL/vH этих конструкций такой же, как порядок фрагментов vL/vH конструкций, показанных в таблице 25. Таким образом, SAR-конструкция с фрагментами BCMA-J6M0 vL/vH является восьмой конструкцией в таблице 25. Следовательно, нуклеотидные и аминокислотные SEQ ID NO SAR-конструкции CD8SP-CD19-FHVN-354-G4S3-BCMA-J6M0-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-BCMA-J6M0-vH-[hTCRb-S57C] с фрагментами vL/vH BCMA-J6M0 можно рассчитать как 2021 (т.е. 2014+8) и 12711 (т.е. 12704+8), соответственно. Следует отметить, что, поскольку SAR имеют модульный формат, цепь hTCRb-S57C может быть заменена делеционным мутантом и/или вариантом, пока SAR сохраняет свою биологическую активность (например, способность связываться с цепью TCRA и/или комплекс TCR/CD3 и/или индуцируют антигензависимую передачу сигналов Т-клетками). Нуклеиновые кислоты и аминокислотные SEQ ID NO примерных

делеционных мутантов и вариантов цепи TCRb перечислены в таблице 12 (например, SEQ ID NO (DNA): 1056-1076 и SEQ ID NO (DNA): 1114-1127). Точно так же цепь hTCRa-T48C может быть заменена делеционным мутантом и/или вариантом, пока он сохраняет свою биологическую активность (например, способность связываться с цепью TCRb и/или комплексом TCR/CD3 и/или индуцировать антиген-зависимую передачу сигналов Т-клеток). Нуклеиновые кислоты и аминокислоты SEQ ID NO примерных делеционных мутантов и вариантов цепи TCRA перечислены в таблице 12 (например, SEQ ID NO (DNA): 1042-1052 и SEQ ID NO (DNA): 1103-1113).

В раскрытии также описаны новые делеционные мутанты цепей TCRA и TCRb, которые можно использовать при конструировании SIR и биспецифичных/мультиспецифичных SAR. Примером SIR, включающим делеционные мутанты константной цепи TCRA и TCRb, является CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C-opt-d17]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa -T48C-opt-d17] и представлен нуклеотидным SEQ ID NO: 1331 и аминокислотным SEQ ID NO: 12021. Конструкции SIR/SAR с делеционными мутантами цепей TCRA и TCRb имеют меньший размер и поэтому имеют то преимущество, что увеличивают титр кодирующего их лентивирусного/ретровирусного вектора, поскольку титр лентивирусного/ретровирусного вектора обратно пропорционален размеру вставки.

В раскрытии в таблице 26 предлагаются целевые антигены, название SAR, модульный состав, SEQ ID NO их ДНК и аминокислотные SEQ ID NO нескольких типичных биспецифичных и триспецифичных SAR на разных каркасах (т.е. с разными константными цепями TCR) и содержащие фрагменты vL/vH нацеливания на различные антигены. Эти SAR-конструкции содержат полностью человеческий одиночный домен vH (CD19-FHvH-354), нацеленный на CD19, и/или полностью человеческий одиночный домен vH (CD22-FHvH-24), нацеленный на CD22. Название и состав первой конструкции каждой серии показаны в таблице 26, которую можно использовать для определения модулей константной цепи TCR, присутствующих в этой серии. Например, из таблицы 26 можно определить, что в конструкциях, представленных нуклеиновой кислотой SEQ ID No: 2178-2343, фрагмент vL функционально связан с модулем [hTCRbECD-CD3zECDTMCP-opt], в то время как фрагмент vH функционально связан с модулем [hTCRaECD-CD3zECDTMCP-opt2]. Поскольку порядок различных конструкций в этой серии такой же, как порядок конструкций серии, показанной в Таблице 25, фрагмент vL/vH различных конструкций в этой серии можно определить по конструкции с одинаковыми фрагментами vL/vH в таблице 25. Аналогичный подход можно использовать для определения SEQ ID NO других конструкций, несущих различные фрагменты vL/vH

серий, перечисленных в Таблице 26, со ссылкой на Таблицу 25. Другие SAR, основанные на модульной архитектуре SAR, описанных в таблицах 25-26, также входят в объем настоящего раскрытия.

SEQ ID нуклеиновых кислот и аминокислот типичных биспецифичных и триспецифичных SAR, основанных на фрагментах vL и vH, полученных из FMC63 scFv и несущих разные константные цепи TCR, представлены в таблицах 26. Нуклеиновые и аминокислотные SEQ ID типичных биспецифичных и триспецифичных SAR, основанных на фрагментах vL и vH, полученных из других фрагментов scFv, могут быть получены путем замены фрагментов vL и vH из FMC63 scFv фрагментами vL и vH, содержащими SAR, перечисленные в Таблице 25. Порядок SAR-конструкций, содержащих разные фрагменты vL/vH, в таблице 26 такой же, как порядок SAR, показанный в таблице 25 для SAR.

Другой примерный двухцепочечный биспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] и представлена SEQ ID NO (DNA): 5037 и SEQ ID NO (PRT): 15727. В этой SAR-конструкции одна цепь SAR содержит фрагмент vL hu-mROO5-1, объединенный с укороченной константной цепью TCRg человека (TCRg-6MD) через линкер IgCL, а другая цепь SAR содержит фрагмент hu-mROO5-1 vH, объединенный с укороченной константной цепью TCRd человека (TCRd-6MD) через линкер IgG1-CH1. Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH из SAR вместе образуют Fv, нацеленный на CD19. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH-2HCD25), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv и нацеливается на CD20 через CD20-USC1-vHH-2HCD25. В таблице 26 представлены нуклеотидные SEQ ID (2839-3003) и аминокислотные SEQ ID No (13529-13693) нескольких примерных биспецифичных SAR, в которых фрагмент vL функционально связан с модулем [IgCL-TCRg-6MD], а фрагмент vH функционально связан с модулями [IgG1-CH1-TCRd-6MD] и содержит фрагменты vL/vH, нацеленные на разные антигены. Эти SAR-конструкции также содержат SVH, нацеленный на CD19 (CD19-FHvH-354). Поскольку порядок различных конструкций в этой серии такой же, как порядок конструкций серии, показанной в таблице 25, фрагмент vL/vH различных конструкций в этой серии можно определить по конструкции с идентичным фрагментом vL/vH, указанным в таблице 25. Поскольку SAR имеют модульный формат, можно заменить один модуль другим или его вариантом при условии, что функциональная активность SAR (т.е. способность связываться с антигеном-мишенью, способность индуцировать передачу

сигналов Т-клетками при связывании собираться в комплекс TCR/CD3 и т.п.) сохраняется. Таким образом, в примерном воплощении фрагмент vL SAR функционально связан с модулем [IgG1-CH1-TCRd-6MD] или его вариантом, а фрагмент vH функционально связан с модулем [IgCL-TCRg-6MD] или его вариантами. Линкеры IgCL и IgG1-CH1 могут быть заменены другими линкерами при условии, что сохраняется функциональная активность SAR (т.е. способность связываться с антигеном-мишенью, способность индуцировать передачу сигналов Т-клетками при связывании антигена, способность собираться в комплекс TCR/CD3 и т.д.). Примеры таких линкеров представлены в таблице 13. В предпочтительном воплощении одна цепь биспецифичного SAR содержит IgCL (SEQ ID NO:11832) или его вариант, тогда как комплементарная цепь содержит линкер, представленный SEQ ID NO:11833-11847. В таблице 13 также перечислены компоненты константных цепей TCR, которые могут служить линкерами при построении SAR. Примеры линкеров на основе константной цепи TCR α /TCR α представлены SEQ ID NO: 11848-11849, 11857-11859. Примеры линкеров на основе константной цепи TCR β /TCR β представлены SEQ ID NO: 11850-11851, 11856, 11860-11861. Примеры линкеров на основе константной цепи TCR γ /TCR γ представлены SEQ ID NO: 11852-11853, 11862, 11863. Примеры линкеров на основе константной цепи TCR δ /TCR δ представлены SEQ ID NO: 11854-11855, 11862, 11864-11865. В одном воплощении одна цепь двухцепочечного SAR содержит линкер на основе цепи TCR α , тогда как другая цепь содержит линкер на основе цепи TCR β . В другом воплощении одна цепь двухцепочечного SAR содержит линкер на основе цепи TCR γ /TCR γ , тогда как другая цепь содержит линкер на основе цепи TCR δ /TCR δ . В одном воплощении одна цепь двухцепочечного SAR содержит линкер на основе цепи TCR α , тогда как другая цепь содержит линкер на основе IgCL (SEQ ID NO:11832). Другие линкеры на основе модулей, подобных иммуноглобулинам, известны в данной области и могут использоваться в альтернативном воплощении изобретения. Наконец, в дополнение к цепям и модулю TCR фрагмент CD20-vHH-2HCD25 может быть заменен другим AABD, нацеленным на другой антиген или другой эпитоп CD20. Примеры AABD представлены в таблицах 5, 7-10. В данной области известны дополнительные AABD (например, vHH, SVH, центрины и т.п.), нацеленные на различные антигены.

Примерный двухцепочечный биспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCR α -wt-op2-6MD] и представлена DNA SEQ ID NO: 5039 и PRT SEQ ID NO: 15729. Этот SAR, аналогичный SAR-конструкции CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-

vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD], представлен SEQ ID NO (DNA): 5037 и SEQ ID NO (PRT): 15727, за исключением того, что модули TCRg-MD и TCRd-MD заменены на модули (TCRb-wt-opt2-6MD; SEQ ID NO: 1126) и (TCRa-wt-op2-6MD; SEQ ID NO: 1112), соответственно. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv и нацеливается на CD20 через CD20-USC1-vHH-2HCD25. В таблице 26 представлены ДНК SEQ ID (3169-3333) и аминокислотные SEQ ID NO (13859-14023) нескольких примерных биспецифичных SAR, в которых фрагмент vL функционально связан с модулем [TCRb-wt-opt2-6MD], а фрагмент vH функционально связан с модулями [TCRa-wt-op2-6MD] и содержит фрагменты vL/vH, нацеленные на разные антигены. Эти SAR также содержат SVH, нацеленный на CD19 (CD19-FHVH-354; SEQ ID NO: 836). Поскольку порядок различных конструкций в этой серии такой же, как порядок конструкций серии, показанной в Таблице 25, фрагмент vL/vH различных конструкций в этой серии можно определить по конструкции с одинаковым фрагментом vL/vH, указанным в таблице 25. Поскольку SAR имеют модульный формат, можно заменить один модуль другим или его вариантом при сохранении функциональной активности SAR. Таким образом, в примерном воплощении фрагмент vL SAR функционально связан с модулем [TCRa-wt-op2-6MD] или его вариантом, а фрагмент vH функционально связан с модулем [TCRb-wt-opt2-6MD] или его вариантами. Точно так же фрагмент CD20-vHH-2HCD25 можно заменить другим AABD, нацеленным на другой антиген или другой эпитоп CD20. Примеры AABD представлены в таблицах 5, 7-10. В данной области известны дополнительные AABD (например, vHH, SVH, центрины и т.п.), нацеленные на различные антигены.

Другой примерный двухцепочечный биспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-CD38-USC1-FHVH-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1- vH-[hTCRa-T48C] и представлен DNA SEQ ID NO: 7405 и PRT SEQ ID NO: 18095. Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR. Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH SAR димеризуются с образованием Fv, нацеленного на CD19. Фрагмент SVH, нацеленный на CD38 (CD38-USC1-FHVH-32184), объединяют с N-концом фрагмента vL hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv и нацеливается на CD38 через CD38-USC1-FHVH-32184.

Другой примерный двухцепочечный трехспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-CD38-USC1-FHVH-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] и представлен DNA SEQ ID NO: 7408 и PRT SEQ ID NO: 18098. Эта SAR-

конструкция имеет каркас SIR. Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH SIR димеризуются с образованием Fv, нацеленного на CD19. Фрагмент SVH, нацеленный на CD38 (CD38-USC1-FHVN-32184), объединяют с N-концом фрагмента vL hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH-2HCD25), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv, нацеливается на CD38 через CD38-USC1-FHVN-32184 и нацеливается на CD20 через CD20-USC1-vHH-2HCD26. Другой примерной триспецифической конструкцией SAR с аналогичным форматом является CD8SP-CD19-FHVN-354-G4S3-FMC63-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-CD22-FHVN-24-FMC63-vH-[hTCRa-T48C-opt], которая представлена SEQ ID NO (DNA): 2344 и SEQ ID NO (PRT): 13034, соответственно. Дополнительные SAR этого формата, в которых vL/vH FMC63 заменены фрагментами vL/vH, полученными из других scFv и нацеленными на разные антигены, представлены в таблице 26 (SEQ ID NO: 2344-2508 и 13034-13198). Фрагменты vL/vH этих конструкций можно определить по их SEQ ID No. при изучении таблицы 25, поскольку порядок фрагментов vL/vH этих конструкций такой же, как порядок фрагментов vL/vH конструкций в таблице 25. Как обсуждалось выше, константные цепи TCR этих конструкций могут быть заменены другими константными цепями TCR, описанными в таблице 12, или их делеционными мутантами и функциональными вариантами при условии, что сохраняется функциональная активность SAR (т.е. способность связываться с антигеном-мишенью, способность индуцировать передачу сигналов Т-клетками при связывании антигена, способность собираться в комплекс TCR/CD3 и т.п.). Примерный SAR, содержащий делеционные мутанты константных цепей TCRA и TCRb, представляет собой CD8SP-CD38-USC1-FHVN-32184-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C-opt-del17]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt-del17] и представлен нуклеотидной SEQ ID NO:1332 и аминокислотной SEQ ID NO:12022. Конструкции SIR/SAR с делеционными мутантами цепей TCRA и TCRb имеют меньший размер и поэтому имеют то преимущество, что увеличивают титр кодирующего их лентивирусного/ретровирусного вектора, поскольку титр лентивирусного/ретровирусного вектора обратно пропорционален размеру вставки. Наконец, в дополнение к цепям и модулю TCR фрагменты CD38-USC1-FHVN-32184 и CD20-USC1-vHH-2HCD26 могут быть заменены другими AABD, нацеленными на другие антигены или эпитопы. Примеры AABD представлены в таблицах 5, 7-10. В данной области известны дополнительные AABD (например, vHH, SVH, центририны и т.п.), нацеленные на различные антигены.

Примерный двухцепочечный триспецифичный SAR, содержащий две цепи,

представляет собой CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-USC1-FHVH-160-G4Sx2-CD20-USC1-vHH-2HCD26-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] и представлен DNA SEQ ID NO: 7407 и PRT SEQ ID NO: 18097. Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR. Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH SIR димеризуются с образованием Fv, нацеленного на CD19. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH-2HCD25), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Кроме того, фрагмент SVH, нацеленный на CD22 (CD22-USC1-FHVH-160), объединяют с N-концом фрагмента CD20 vHH через другой глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через Fv hu-mROO5-1, нацеливается на CD20 через CD22-USC1-FHVH-160 и нацеливается на CD20 через CD20-USC1-vHH-2HCD26. Поскольку SAR имеют модульный формат, цепи TCR могут быть заменены другими цепями TCR или их вариантами, AABD могут быть заменены другими AABD или их вариантами, а фрагменты vL/vH заменены другими фрагментами vL/vH или их вариантами.

Примерный двухцепочечный тетраспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD38-FHVH-309021-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] и представлен DNA SEQ ID NO: 5362 и PRT SEQ ID NO: 16052. Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR. Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH SIR димеризуются с образованием Fv, нацеленного на CD19. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH-2HCD25; SEQ ID NO: 835), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Фрагмент SVH, нацеленный на CD38 (CD38-FHVH-309021; SEQ ID NO: 846), объединяют с N-концом фрагмента hu-mROO5-1-vL через глицин-сериновый линкер. SVH, нацеленный на BCMA (BCMA-FHVH-33; SEQ ID NO: 856), объединяют с N-концом фрагмента CD38-FHVH-309021 через другой глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv, нацеливается на CD20 через CD20-vHH-2HCD25, нацеливается на CD38 через CD38-FHVH-309021 и нацеливается на BCMA через BCMA-FHVH-33. Поскольку SAR имеют модульный формат, цепи TCR могут быть заменены другими цепями TCR или их вариантами, AABD могут быть заменены другими AABD или их вариантами, а фрагменты vL/vH заменены другими фрагментами vL/vH или их вариантами.

Примером двухцепочечного пентаспецифичного SAR, содержащего две цепи, является CD8SP-BCMA-FHVH-33-G3Sx2-CD38-FHVH-309021-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-CD22-FHVH-158-G4Sx2-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C], который представлен представлен DNA SEQ ID NO: 5437 и

PRT SEQ ID NO: 16127. Эта SAR-конструкция напоминает конструкцию, представленную DNA SEQ ID NO: 5362 и PRT SEQ ID NO: 16052, но дополнительно содержит фрагмент SVH, нацеленный на CD22 (CD22-FHVN-158; SEQ ID NO: 848), объединенный с N-концом ДНК. фрагмент CD20-vHH-2HCD25 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv, нацеливается на CD20 через CD20-vHH-2HCD25, нацеливается на CD38 через CD38-FHVN-309021 и нацеливается на ВСМА через ВСМА-FHVN-33. Поскольку SAR имеют модульный формат, цепи TCR могут быть заменены другими цепями TCR или их вариантами, AABD могут быть заменены другими AABD или их вариантами, а фрагменты vL/vH заменены другими фрагментами vL/vH или их вариантами. Фрагменты vL/vH, содержащие SAR, могут быть полностью человеческими, гуманизированными, химерными или нечеловеческими по происхождению.

В предыдущих примерах биспецифичный и мультиспецифичный каркас SAR состоит из фрагментов vL и vH, с которыми функционально связаны один или несколько AABD. В раскрытии также описаны SAR, каркас которых состоит из переменных фрагментов (Va/Vb или Vg/Vd), полученных из TCR.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается одноцепочечный, полуторный или двухцепочечный SAR, содержащий по меньшей мере одну цепь, которая имеет общую формулу: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-вариабельный фрагмент TCR-необязательный линкер-постоянный TCR цепь; где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где вариабельный фрагмент TCR представляет собой Va, Vb, Vg или Vd, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α или его мутант или вариант. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVN, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.).

В одном из воплощений в раскрытии предлагается двухцепочечный SAR, содержащий одну цепь общей формулы: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-фрагмент Va-необязательный линкер-константная цепь TCR; и вторую цепь, которая имеет общую формулу: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-фрагмент Vb-необязательный линкер-константная цепь TCR, где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α (C α), TCR β 1 (C β 1), TCR β 2 (C β 2), TCR γ (C γ), TCR δ (C δ) или пре-TCR α (пре-C α), или их мутант, или вариант. В воплощении две цепи SAR содержат комплементарные константные цепи TCR; то есть C α и C β , претс. R α и C β или C γ и C δ . Цепь C β может представлять собой либо C β 1, либо

Сβ2.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается двухцепочечный SAR, содержащий одну цепь общей формулы: (AABD)_n-необязательный линкерный домен-фрагмент Vg-необязательный линкер-константная цепь TCR; и вторую цепь, которая имеет общую формулу; (AABD)_n-необязательный линкерный домен-фрагмент Vd-необязательный линкер-константная цепь TCR, где n = 0, 1, 2, 3, 4, 5 или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCRα (Cα), TCRβ1 (Cβ1), TCRβ2 (Cβ2), TCRγ (Cγ), TCRδ (Cδ) или пре-TCRα (пре-Cα), или их мутант, или вариант. В воплощении две цепи SAR содержат комплементарные константные цепи TCR; то есть Cα и Cβ, претс. Rα и Cβ или Cγ и Cδ. Цепь Cβ может представлять собой либо Cβ1, либо Cβ2.

Примерный SAR, в котором AABD функционально связан с цепью Va и/или Vb, представляет собой CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC и представлен нуклеотидным SEQ ID NO: 3502 и аминокислотным SEQ ID NO: 14192. Эта SAR-конструкция имеет фрагмент MC7G5-Vb, объединенный с константной цепью человеческого TCRb, несущего мутацию S57C (hTCRb-S57C), и фрагмент MC7G5-Va, объединенный с константной цепью человеческого TCRa, несущего мутацию T48C (hTCRa-T48C). Фрагменты MC7G5-Va и MC7G5-Vb SAR связываются с MR1. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH-2HCD25), объединен с N-концом фрагмента MC7G5-Va через глицин-сериновый линкер (G4Sx3v2). Таким образом, SAR нацеливается на MR1 через фрагменты MC7G5 Va/Vb и нацеливается на CD20 через CD20-vHH-2HCD25.

Примером SAR, основанным на каркасе γδ TCR, является CD8SP-BCMA-FHVN-93-G4S-TCR-Vg9-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-TCR-Vd2-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22201). Этот SAR имеет каркас TCR Vγ9/Vδ2. Т-клетки Vγ9/Vδ2 представляют собой второстепенную и нетрадиционную составляющую популяции лейкоцитов в периферической крови (0,5–5%), однако предполагается, что они играют важную роль в ощущении «опасности» от вторжения патогенов. Они распознают одно и то же маленькое микробное соединение (Е)-4-гидрокси-3-метил-бут-2-енилпирофосфат (НМВ-РР), природный промежуточный продукт не-мевалонатного пути биосинтеза изопентенилпирофосфата (IPP). Вышеупомянутый SAR на каркасе Vγ9/Vδ2 также может распознавать BCMA через BCMA-FHVN-93, который присоединен к N-концу переменного домена Vg9 через линкер G4S, и распознавать CD20 через CD20-vHH2-HCD25, который присоединен к N-концу переменного домена Vd2. Дополнительные SAR на каркасе Vγ9/Vδ2 могут быть сконструированы путем замены BCMA-FHVN-93 и

CD20-vHH2-HCD25 антигенсвязывающими доменами (например, AABD), связывающими другие антигены. Примерный SAR на каркасе V γ 9/V δ 2 также может быть сконструирован путем замены доменов Va и Vb MC7G5 (MC7G5) SAR с SEQ ID NO: 3500-3595 на переменные домены V γ 9/V δ 2.

В раскрытии также описаны SAR, в которых фрагменты vL и/или vH из SAR, описанные в предыдущем разделе, заменены фрагментами Va и/или Vb, полученными из T-клеточных рецепторов (TCR). Несколько типичных биспецифичных и триспецифичных SAR, основанных на фрагментах Va и Vb из TCR (MC7G5), направленных против MIR1, мономорфного белка, родственного MHC класса I (MR1), в качестве каркаса и несущих AABD, направленных на CD19 и/или CD20, представлены в таблице 27. Композицию этих SAR можно определить по их названию. Дополнительные SAR на каркасе TCR перечислены в таблице 28. Другие SAR, основанные на модульной архитектуре SAR, описанных в таблицах 27-28, также входят в объем настоящего раскрытия.

В раскрытии также предлагаются примерные SAR, в которых один или несколько AABD функционально связаны с N-концом или рядом с N-концом переменного фрагмента (например, Va, Vb, Vg или Vd), полученного из TCR. Пример такой SAR-конструкции представляет собой CD8SP-Sph-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C] и представлен нуклеотидной SEQ ID NO: 3535 и аминокислотной SEQ ID NO: 14225. Примерный триспецифичный SAR на основе каркаса MC7G5 представляет собой CD8SP-Sph-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C] и представлен нуклеотидной SEQ ID NO: 3578 и аминокислотной SEQ ID NO: 14268.

Несколько типичных биспецифичных и триспецифичных SAR, основанных на фрагментах Va и Vb из TCR (MC7G5), направленных против MIR1, мономорфного белка, родственного MHC класса I (MR1), в качестве каркаса и несущих AABD, направленных на CD19 и/или CD20, представлены в таблице 27. Составы этих SAR можно определить по их названию. Возможна замена одного модуля этих SAR на другой модуль. Модули, которые могут быть заменены, включают фрагменты Va/Vb, константные цепи TCR (т.е. hTCRb-S57C и hTCRa-T48C), а также AABD (т.е. CD20-vHH-2HCD25). Дополнительные SAR, основанные на различных переменных доменах TCR, константных цепях TCR и AABD, перечислены в таблице 28. SAR, в которых фрагмент Va/Vb из SAR на основе MC7G5, перечисленных в таблице 27, заменен фрагментом Va/Vb, полученным из TCR, нацеленного на пептид, производный от CMV-pp65 (SEQ ID NO: 21452), в комплексе с HLA-A2, представлены нуклеотидными SEQ ID NO: 3891-3988 и аминокислотными SEQ

ID NO: 14581-14678, соответственно (таблица 28). Аналогично, примерные SAR, в которых фрагмент Va/Vb из SAR на основе MC7G5, перечисленных в таблице 27, заменен фрагментом Va/Vb, полученным из TCR, нацеленного на пептид, производный от NYESO-1 (SEQ ID NO: 21461), в комплексе с HLA-A2, представлены нуклеотидными SEQ ID NO: 3989-4086 и аминокислотными SEQ ID NO: 14679-14776, соответственно (таблица 28). Порядок этих конструкций аналогичен порядку конструкций на основе MC7G5, перечисленных в таблице 27.

В раскрытии также предлагаются SAR, кодирующие полипептиды SAR, в которых одна цепь содержит вариабельный фрагмент, полученный из антитела (например, vL или vH), а вторая цепь содержит вариабельный фрагмент, полученный из TCR (например, Va, Vb, Vg или Vd). Примеры таких полипептидов SAR представлены SEQ ID NO (PRT): 23020 и 23021. Вариабельные фрагменты, полученные из антител и TCR в таком SAR, могут служить остовом для прикрепления одного или нескольких AABD.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается одноцепочечный, полуторный или двухцепочечный SAR, содержащий по меньшей мере одну цепь, которая имеет общую формулу: (AABD) n -необязательный -линкер-константная цепь TCR; где $n = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α , или их мутант, или вариант. В одном воплощении линкер представляет собой линкерный домен Ig (например, IgCL, IgG1-CH1 и т.п.). Примеры Ig (или Ig-подобных) линкерных доменов представлены в таблице 13. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVH, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.). В примерном воплощении AABD представляет собой домен связывания адаптера.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается двухцепочечный SAR, содержащий одну цепь общей формулы: (AABD) n -линкерный домен Ig-константная цепь TCR; и вторую цепь, которая имеет общую формулу: (AABD) n - линкерные домены Ig - константная цепь TCR, где $n = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ или более, и где константная цепь TCR представляет собой константную цепь TCR α (C α), TCR β 1 (C β 1), TCR β 2 (C β 2), TCR γ (C γ), TCR δ (C δ) или пре-TCR α (пре-C α), или их мутант, или вариант. В воплощении две цепи SAR содержат комплементарные константные цепи TCR; например, C α и C β , pretc.R α и C β или C γ и C δ . Цепь C β может представлять собой либо C β 1, либо C β 2. В воплощении две цепи SAR содержат комплементарные линкерные домены Ig; например, IgCL и IgG1-CH1, IgCL и IgG2-0C-CH1 или IgCL (SEQ ID NO: 11832) и IgG4-CH1 (SEQ ID NO: 11842) и т.п. В одном воплощении одна цепь SAR содержит линкерный домен IgCL (SEQ ID NO

(DNA): 1142 и SEQ ID NO (PRT): 11832), а вторая цепь SAR содержит линкерный домен IgG1-CH1 (SEQ ID NO (DNA): 1143 и SEQ ID NO (PRT): 11833). Дополнительные линкерные домены Ig представлены SEQ ID NO (DNA): 1149-1157 и SEQ ID NO (PRT): 11839-11847 (таблица 13) и могут заменять линкерный домен IgG1-CH1. Наконец, в данной области техники известны другие линкерные домены Ig или Ig-подобные линкерные домены, которые можно использовать в альтернативных воплощениях изобретения. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, FHVH, SVL, svd-TCR, центирин, дарпин, CD16A, CD64, CD32, NKG2D, NKG2D-AF, NKG2D-YA, RZIP, EZIP, E4, K4, домен D и т.п.). В примерном воплощении AABD представляет собой домен связывания адаптера.

Примерный SAR на каркасе MC7G5, в котором домен CD20-vHH-2HCD25 заменен лиганд-связывающим доменом NKG2D (NKG2D-G4Sx3-NKG2D), представлен CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-NKG2D-G4Sx3-NKG2D-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C] и содержит нуклеотидную SEQ ID NO:3601 и аминокислотную SEQ ID NO:14291. Другие примерные SAR, в которых домен CD20-vHH-2HCD25 из SAR, перечисленных в таблице 27, заменен лиганд-связывающим доменом NKG2D, представлены нуклеотидным SEQ ID NO: 3597-3694 и аминокислотным SEQ ID NO: 14287-14384 (Таблица 28). Порядок этих конструкций аналогичен порядку конструкций, содержащих CD20-vHH-2HCD25, перечисленных в Таблице 27. SAR-конструкции, содержащие лиганд-связывающий домен NKG2D, способны связываться и реагировать на клетки, экспрессирующие лиганды NKG2D, такие как MICA и MICB.

В настоящем документе описаны способы и композиции, которые обеспечивают повышенную безопасность и эффективность клеток SAR (например, SAR-T-клеток, SAR-NK, SAR-моноцитов/макрофагов и т.п.), обеспечивая универсальный подход для комбинаторного, временного и логического контроля множественных клеточных сигнальных путей.

В одном воплощении специфичность повышается при применении SAR, которые могут обнаруживать два или более антигена. Способность обнаруживать более двух антигенов может еще больше повысить специфичность опухоли. Кроме того, даже когда SAR Т-клетки попадают в цель, могут возникать неблагоприятные побочные эффекты, когда чрезмерная активация Т-клеток приводит к синдрому высвобождения цитокинов. В раскрытии предлагаются полезные конструкции и конфигурация для построения SAR, экспрессирующих переключатели Kill и ON, для смягчения некоторых из этих побочных эффектов. Тем не менее, эти переключатели служат в основном главными переключателями и, следовательно, не имеют точного управления. Поскольку контроль

активации естественных иммунных клеток достигается за счет баланса нескольких костимулирующих и коингибирующих сигнальных путей, стратегии, которые обеспечивают настраиваемый и временной контроль над такими сигнальными путями, важны для оптимизации эффективности SAR-экспрессирующих клеток (или SAR-клеток). Эти проблемы иллюстрируют необходимость интеллектуальных средств управления ответа SAR-клеток.

Описаны универсальные конструкции CAR, включающие одноцепочечные химерные рецепторы (например, CAR 2-го поколения), которые не распознают антиген-мишень напрямую, а вместо этого контактируют с молекулами-адаптерами (CAR-адаптерами), которые, в свою очередь, связываются с антигеном-мишенью. Такие универсальные CAR или модульные CAR были предложены в качестве потенциального решения проблем, с которыми сталкиваются обычные CAR, таких как гетерогенность опухоли и ускользание антигена, токсичность, тоническая передача сигналов, приводящая к истощению, и иммуногенность. Таким образом, активность универсальных CAR-T-клеток строго зависит от наличия у них CAR-адаптеров, обеспечивающих формирование иммунологического синапса. Следовательно, формирование синапса зависит от соответствующих характеристик CAR-адаптеров; важны аффинность CAR-адаптеров к опухолевым антигенам, аффинность к выбранному внеклеточному домену (ECD) универсального CAR, уровень экспрессии CAR, период его полувыведения, а также его биораспределение. Поскольку конструкции CAR следующего поколения (например, SIR, cTCR, Ab-TCR, TFP и/или TCR и т.п.) отличаются от CAR 2-го поколения уровнем экспрессии и аффинностью к мишени, соответствующие композиция и конфигурация для включения адаптеров в конструкции CAR следующего поколения в настоящее время неизвестны. Точно так же неизвестна подходящая композиция и конфигурация для включения адаптеров в многоцепочечные конструкции (например, SIR с двойной цепью, cTCR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP или TCR). Наконец, в настоящее время неизвестна соответствующая композиция и конфигурация для включения адаптеров в конструкции CAR следующего поколения (например, SIR, cTCR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP или TCR и т.п.) с биспецифичными, бипаратопными, мультиспецифичными и мультипаратопными свойствами.

В данной заявке описаны новые композиции, конструкции и конфигурации универсальных платформ SAR со способностью (а) служить в качестве переключателя ВКЛ/ВЫКЛ, (b) обнаруживать несколько антигенов и выполнять логические вычисления и (c) независимо регулировать несколько сигнальных путей, которые обеспечит необходимый контроль для оптимизации терапии SAR-клетками. Для этой цели

используются отдельные, универсальные, программируемые и реконфигурируемые платформы UNI-SAR, описанные в данном документе. Важно отметить, что платформы UNI-SAR могут устанавливать новые мишени без дальнейших манипуляций с иммунными клетками пациентов. В одном воплощении платформа UNI-SAR представляет собой двухкомпонентную рецепторную систему, состоящую из универсального рецептора, экспрессированного на иммунных клетках (например, Т-клетках, NK-клетках, NKT-клетках, моноцитах и т.д.), и антигенсвязывающего адаптера, нацеленного на опухоль (SAR-адаптер). В одном воплощении универсальный рецептор создается путем объединения AABD, scFv или Fv, содержащего домен связывания адаптера с сигнальной цепью, которая либо способна инициировать клеточный сигнал, либо рекрутирует одну или несколько сигнальных цепей, которые способны инициировать клеточный сигнал. Молекула SAR-адаптера создается путем слияния адаптера (например, домена лейциновой молнии, например, RZIP, EZIP и т.п.) с антигенсвязывающим фрагментом (например, scFv, vHH, FHVH, центрином и т.п.). Антигенсвязывающая часть SAR-адаптера связывается с антигеном, а адаптер (например, домен лейциновой молнии, например, RZIP) связывается и активирует UNI-SAR на иммунных клетках. Эта система также функционирует как настраиваемый переключатель с адаптером SAR в качестве титруемого индуктора. Однако, в отличие от других существующих систем с разделенным CAR, в данном документе описываются ортогональные пары адаптеров UNI-SAR/SAR, которые позволяют независимо управлять несколькими сигнальными путями и выполнять логические операции.

Одним из ограничений расщепленных и универсальных CAR, описанных в данной области техники, является необходимость повторного и/или непрерывного введения SAR-адаптера для активации клеток, экспрессирующих CAR, что приводит к неудобству, увеличению стоимости, инфекционным и аллергическим осложнениям. Следовательно, в некоторых ситуациях было бы желательно иметь SAR-конструкцию, которая может связываться с клетками и нацеливаться на них с помощью встроенных конститутивных моноспецифичных, биспецифичных и/или мультиспецифичных модулей нацеливания, но обладает дополнительной гибкостью нацеливания на дополнительные антигены (т.е. универсальные способность нацеливания) при использовании в сочетании с соответствующими адаптерами SAR, содержащими антигенсвязывающий(ие) домен(ы) для этих антигенов.

В раскрытии предлагаются новые композиции, конфигурации и дизайны SAR, обозначенные как UNICON-SAR, которые имеют конститутивные (или встроенные) моноспецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные модули нацеливания, но,

кроме того, имеют один или несколько доменов связывания адаптера, которые также придают универсальные свойства наведения при использовании совместно с соответствующим SAR-адаптером. В примерном воплощении предлагается SAR, который может конститутивно связываться и нацеливаться на клетки, экспрессирующие CD19, CD19 и CD20, CD19, CD20 и BCMA или CD19, CD20 и PSMA, но также содержит один или несколько доменов связывания адаптера, что позволяет ему быть перенаправленным к Her2-экспрессирующим клеткам в присутствии антитела к Her2 (например, герцептина) или другого SAR-адаптера, содержащего домен связывания Her2. В другом примерном воплощении предлагается SAR, который может конститутивно связываться и нацеливаться на клетки, экспрессирующие CD19, CD19 и CD22, CD19, CD22 и BCMA или CD19, CD22 и Her2, но также содержит один или несколько доменов связывания адаптера, что позволяет ему быть перенаправленным к CD20-экспрессирующей клетке в присутствии антитела к CD20 (например, ритуксимаба) или другого SAR-адаптера, содержащего домен связывания CD20. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO: 22173 и 22176. Преимущество таких клеток, экспрессирующих UNICON-SAR, заключается в том, что они конститутивно активны против клеток, экспрессирующих их антиген-мишень (например, раковых клеток), благодаря своим встроенным модулям нацеливания, но также обладали гибкостью перенаправления на дополнительные антигены с применением адаптеров SAR, если и когда это необходимо. Таким образом, конструкция UNICON-SAR обеспечивает повышенную эффективность, многоцелевое наведение, точность, гибкость, безопасность, удобство и экономичность. Платформы UNISAR и UNICON-SAR могут быть основаны на любом из адаптеров, описанных в этом раскрытии, включая, без ограничения указанным, лейциновые застежки-молнии (например, RZIP и EZIP), домены E4, K4, D, неприродные пары рецептор-лиганд на основе NKG2D (например, NKG2D-YA) и модули связывания Fc.

В одном воплощении платформа UNI-SAR использует лейциновую молнию в качестве внеклеточной части SAR и различных сигнальных цепей. Когнатная лейциновая молния объединена с антигенсвязывающим фрагментом (например, специфическим scFv). Введение слияния антитела/лейциновой молнии активирует Т-клетки и, таким образом, служит переключателем ВКЛ в зависимости от дозы. Лейциновые молнии представляют собой класс белковых доменов, которые могут образовывать гетеромерные структуры за счет взаимодействия зарядов. Лейциновые молнии выгодны для платформы UNI-SAR, поскольку доступно множество ортогональных пар лейциновых молний, что обеспечивает большой пул кандидатов для разработки. Домены лейциновой молнии также могут быть сконструированы так, чтобы конкурировать друг с другом за одного и того же партнера по

связыванию, что обеспечивает ингибирование и функциональность «NOT». Более того, мы можем использовать различные аффинности между парами лейциновых молний для разработки сложных функций, описанных в данной области техники, таких как OR, NEVIPLY, AND и XOR.

Каждый отдельный SAR можно легко связать с scFv, нацеленными на разные антигены, что позволяет проводить комбинаторное и логическое определение антигена. При характеристике *in vitro* можно сопоставить реакции платформ UNI-SAR и UNICON-SAR (например, цитотоксичность, продуцирование цитокинов и образование Т-клеток памяти) с параметрами дизайна (например, уровнем экспрессии zipSAR, концентрацией zipFv, аффинностью scFv и аффинностью лейциновой молнии). Функциональные возможности, описанные в настоящей заявке, также могут быть протестированы *in vivo* на моделях ксенотрансплантата опухоли мыши.

Текущие дизайны CAR имеют ограниченные возможности контроля и вычислений. Эти недостатки делают существующие CAR восприимчивыми к опасной сверхактивации и снижают способность CAR отличать опухолевые клетки от здоровых тканей. В настоящей заявке описаны композиции и дизайны, предназначенные для контроля и вычислительных возможностей с применением, например, платформ UNI-SAR и UNICON-SAR для независимой регуляции нескольких сигнальных путей в Т-клетках, что позволяет осуществлять логические функции и функции сигнального микшера.

Способы и композиции обеспечивают преимущества, например, они обеспечивают первую многофункциональную универсальную платформу SAR с переключателем ВКЛ/ВЫКЛ, логическим обнаружением и интеграцией, процессированием >2 антигенов и независимой регуляцией различных сигнальных путей. Эти функции никогда не демонстрировались вместе в одной системе и, в частности, в контексте конструкций CAR следующего поколения, таких как SIR, Ab-TCR и TFP. Кроме того, такие особенности не были описаны для двухцепочечных CAR следующего поколения, таких как двухцепочечный SIR, двухцепочечный cTCR, двухцепочечный TCR, двухцепочечный Ab-TCR, двухцепочечный TCR и двухцепочечный AABD-TCR и т.п. В частности, в настоящей заявке предусмотрена первая независимая настройка множественных сигнальных путей в Т-клетках с применением SAR. Различные параметры могут влиять на отдельную универсальную систему SAR, которая будет полезна для разработки титруемых переключателей ON/OFF в SAR. Описанные в данном документе конструкции UNISAR и UNICON-SAR можно использовать для создания двухвходовых булевых вентилях с SAR, включая логические элементы OR, NDVIPLY, AND и XOR.

Используемый в данном документе термин «многокомпонентный SAR» относится

к SAR, содержащему по меньшей мере два отдельных полипептида. В некоторых воплощениях многокомпонентный SAR может содержать два, три, четыре, пять или более отдельных полипептидов. В некоторых воплощениях каждый по меньшей мере из двух отдельных полипептидов многокомпонентного SAR содержит домен взаимодействия с белком, который обеспечивает взаимодействие, например, связывание отдельных полипептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере один из полипептидов многокомпонентного SAR представляет собой внеклеточный полипептид, также известный как SAR-адаптер, имеющий антигенсвязывающий домен, но лишенный трансмембранного домена, и по меньшей мере один из полипептидов представляет собой трансмембранный полипептид, способный передавать сигнал. В одном воплощении по меньшей мере один из трансмембранных полипептидов многокомпонентного SAR либо обладает внутриклеточным сигнальным доменом, либо способен рекрутировать один или несколько белков, обладающих внутриклеточным сигнальным доменом. Трансмембранный полипептид многокомпонентного SAR может иметь один или несколько доменов распознавания антигена, по меньшей мере один из которых связывается с внеклеточным адаптером SAR, который имеет антигенсвязывающий домен, но не имеет трансмембранного домена.

В одном аспекте воплощений, описанных в настоящей заявке, речь идет о многокомпонентном химерном антигенном рецепторе (SAR); многокомпонентный SAR, содержащий: а) первый распознающий полипептид (или адаптер SAR), содержащий 1) реагент антитела, специфичный к первому антигену-мишени, и 2) домен взаимодействия с белком; и б) по меньшей мере один сигнальный полипептид, содержащий 1) внеклеточный домен взаимодействия с белком, который может специфически связываться с доменом взаимодействия с белком первого распознающего полипептида или SAR-адаптера, и 2) по меньшей мере одну цепь, которая либо содержит внутриклеточный сигнальный домен, либо способна рекрутировать один или несколько белков, которые содержат внутриклеточный сигнальный домен. В одном воплощении внутриклеточный сигнальный домен представляет собой домен активации.

Используемый в данном документе термин «полипептид распознавания» или «адаптер SAR» или «адаптер» относится к внеклеточному полипептиду, имеющему антигенсвязывающий домен. В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен может представлять собой реагент антитела (например, моноклональное антитело, scFv, домен vHH верблюда, однодоменное антитело и т.п.) или неиммуноглобулиновый остов, связывающий антитело. В некоторых воплощениях распознающий полипептид может дополнительно содержать домен взаимодействия с белком или адаптер.

Неограничивающие примеры адаптеров включают домены RZIP, EZIP, E4, K4, D, NKG2D-YA, NKG2D-AF и т.п. В одном воплощении антитело (например, ритуксимаб) может служить адаптером SAR при использовании в комбинации с SAR, экспрессирующим Fc-связывающий домен (например, CD16A, CD16-V158, CD32 или CD64 и т.п.).

Используемый в данном документе термин «сигнальный полипептид» относится к трансмембранному полипептиду, который либо содержит внутриклеточный сигнальный домен, либо способен рекрутировать один или несколько белков с помощью внутриклеточного сигнального домена. В некоторых воплощениях сигнальный полипептид может дополнительно содержать домен взаимодействия с белком. В некоторых воплощениях сигнальный полипептид может дополнительно содержать домен взаимодействия с внеклеточным белком (или домен связывания адаптера), который связывается с адаптером SAR.

Используемый в данном документе термин «домен взаимодействия с белком» относится к домену, который обеспечивает специфическое связывание двух отдельных полипептидов друг с другом. Ряд примерных доменов взаимодействия с белком, а также пар доменов взаимодействия с белком представлены в данной заявке в других местах. В некоторых воплощениях домены взаимодействия с белком полипептидов многокомпонентного SAR могут специфически связываться, например, один из доменов взаимодействия с белком может специфически связываться со вторым доменом взаимодействия с белком многокомпонентного SAR. В некоторых воплощениях специфическое связывание может происходить, когда присутствуют два отдельных домена взаимодействия с белком. В некоторых воплощениях специфическое связывание может происходить, когда присутствуют три или более отдельных доменов взаимодействия с белком. Примеры доменов взаимодействия с белками известны в данной области техники и могут использоваться в воплощениях аспектов, описанных в настоящей заявке.

В некоторых воплощениях любого из аспектов, описанных в настоящей заявке, домены взаимодействия с белком могут представлять собой домены лейциновой молнии. Домены лейциновой молнии представляют собой тип домена межбелкового взаимодействия, обычно обнаруживаемый в факторах транскрипции, характеризующихся остатками лейцина, равномерно распределенными по α -спирали. Лейциновые молнии могут образовывать гетеродимеры или гомодимеры. Ряд доменов лейциновой молнии, а также их способность связываться друг с другом известны в данной области и дополнительно обсуждаются, например, в Reinke et al. JACS 2010 132:6025-31, Thomposon

et al. ACS Synth Biol 2012 1:118-129 и WO2017091546A1; каждый из которых полностью включен в настоящую заявку ссылкой. В некоторых воплощениях один домен лейциновой молнии представляет собой RZIP, а второй домен лейциновой молнии представляет собой EZIP.

В некоторых воплощениях домен взаимодействия с белком, присутствующий на внеклеточном белке, называется адаптером, тогда как домен взаимодействия с белком, присутствующий на SAR, называется доменом связывания адаптера. Однако два домена могут поменяться местами. Таким образом, в некоторых воплощениях внеклеточный полипептид (т.е. адаптер SAR) может содержать домен EZIP, который взаимодействует с доменом RZIP (т.е. доменом связывания адаптера), присутствующим на трансмембранном домене, содержащем сигнальную цепь SAR. В других воплощениях внеклеточный полипептид (т.е. адаптер SAR) может содержать домен RZIP, который взаимодействует с доменом EZIP (т.е. доменом связывания адаптера), присутствующим на трансмембранном домене, содержащем сигнальную цепь SAR.

Другие примерные домены лейциновой молнии описаны в Reinke et al. JACS 2010 132:6025-31; который полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Например, подходящие домены лейциновой молнии могут включать от SYNZIP 1 до SYNZIP 48 и BATF, FOS, ATF4, ATF3, BACH1, JUND, NFE2L3 и HEPTAD. Аффинности связывания различных комбинаций этих доменов описаны, например, на Фиг. 1 в Reinke et al. В некоторых воплощениях подходящая пара доменов лейциновой молнии имеет константу диссоциации (Kd) 1000 нМ или менее. В некоторых воплощениях подходящая пара доменов лейциновой молнии имеет константу диссоциации (Kd) 100 нМ или менее. В некоторых воплощениях подходящая пара доменов лейциновой молнии имеет константу диссоциации (Kd) 10 нМ или менее. В некоторых воплощениях подходящая пара доменов лейциновой молнии имеет константу диссоциации (Kd) 1 нМ или менее.

Другие примерные пары доменов взаимодействия с белками могут включать а) домены PSD95-Dlg1-zo-1 (PDZ); b) домен стрептавидина и домен связывающего стрептавидин белка (SBP); и c) домен PYL и домен ABI.

В некоторых воплощениях любого из аспектов, описанных в настоящей заявке, домены взаимодействия с белком могут представлять собой химически индуцированные домены взаимодействия с белком, например, домены, которые будут специфически связываться только в присутствии третьей молекулы, например, малой молекулы или лекарственного средства. Примеры пар химически индуцированных доменов взаимодействия с белком могут включать: FKBP-связывающий домен mTOR (FRB) и FK506-связывающий белок (FKBP) (связывание которого активируется такролимусом,

эверолимусом или рапалогом); гибридный белок циклофилин-Fas (CyP-Fas) и белок, связывающий FK506 (FKBP) (связывание которого активируется FKCsA); кальцинейрин А (CNA) и FK506-связывающий белок (FKBP) (связывание которого активируется FK506); нечувствительный к гиббереллину (GIA) и нечувствительный к гиббереллину dwarf1 (GID1) (связывание которого активируется гиббереллином); Snap-метку и Halo-метку (связывание которых активируется HaXS); и T14-3-3-cdeltaC и C-концевые пептиды PMA2 (CT52) (связывание которых активируется фузикокином). Дальнейшее описание химически индуцированных доменов взаимодействия с белками можно найти в данной области, например, Miyamoto et al. *Nat Chem Biol.* 2012 Mar 25; 8(5): 465-470 и Belshaw et al. *PNAS* 1996 93:4604-4607; каждый из которых полностью включен в настоящую заявку ссылкой.

В некоторых воплощениях любого из аспектов, описанных в настоящей заявке, домены взаимодействия с белком могут содержать по меньшей мере одну нуклеотидную метку и по меньшей мере один домен цинковых пальцев. Цинковые пальцевые домены характеризуются координацией иона цинка для стабилизации их третичной структуры. Конкретные складки, которые появляются на цинковых пальцах, могут различаться. В некоторых воплощениях домен цинкового пальца может быть доменом цинкового пальца, связывающим нуклеотиды. В некоторых воплощениях домен цинкового пальца может быть ДНК-связывающим доменом цинкового пальца. В некоторых воплощениях домен взаимодействия с белком полипептида распознавания представляет собой нуклеотидную метку, а домен взаимодействия с внеклеточным белком сигнального полипептида представляет собой домен цинкового пальца. В некоторых воплощениях нуклеотидная метка может представлять собой ДНК-метку. В некоторых воплощениях нуклеотидная метка может представлять собой метку двухцепочечной ДНК, содержащую полную последовательность распознавания для используемого домена цинкового пальца. Типичные домены цинковых пальцев и родственные им нуклеотидные метки описаны в данной области, например, в Mali et al. *Nature Methods* 2013 10:403-406; который полностью включен в настоящую заявку ссылкой. В некоторых воплощениях домен цинкового пальца может представлять собой sZF15, описанный в Mali et al. *Nature Methods* 2013 10:403-406.

В некоторых аспектах SAR раскрытия включает домен связывания адаптера (например, домен лейциновой молнии, например, RZIP или EZIP и т.п.), который позволяет ему связываться с внеклеточным полипептидом или адаптером SAR. Иммунные клетки, экспрессирующие такие SAR-конструкции, могут быть перенаправлены на разные клетки-мишени с помощью различных адаптеров SAR (т.е. различных

антигенсвязывающих доменов (например, антител, фрагментов антител, vHH, FHVH и т.п.), объединенных с адаптерами). Примеры адаптеров и доменов связывания адаптеров приведены в таблице 10. В примерном воплощении SAR, кодирующий RZIP, можно использовать в сочетании с полипептидом, кодирующим EZIP, содержащим антигенсвязывающий домен, нацеленный на CD19, для нацеливания на CD19-экспрессирующую клетку.

Аналогично, SAR, содержащий антигенсвязывающий домен, нацеленный на Strep-метку (SEQ ID NO: 1192) или FITC (например, SEQ ID NO: 1978-1979), можно использовать в комбинации с Strep-меченым или FITC-меченым антителом/фрагментом антитела для нацеливания на антиген, связанный этими антителами/фрагментами антител. Другие адаптеры известны в данной области техники (например, WO2019099440, WO2016154621, WO2016168766, WO2016168773, WO2018075807 и Diana Darowski et al., MABS, 2019, 11, 4, 621–631) и могут использоваться в альтернативном воплощении изобретения.

Раскрытие обеспечивает удобную конфигурацию и расположение для включения адаптеров, содержащих домены лейциновой молнии (например, RZIP, EZIP и т.п.), в SAR. Раскрытие обеспечивает полезные конфигурации и места для включения нескольких адаптеров. В раскрытии предлагаются SAR-конструкции, содержащие 1, 2, 3 или более адаптеров, например, адаптеры, содержащие домены лейциновой молнии или другие домены взаимодействия с белками, описанные в настоящей заявке. В одном воплощении SAR содержат два или более адаптера одного типа (например, 2 домена RZIP или 2 домена E4). В других воплощениях SAR содержат два или более адаптера разных типов (например, 1 RZIP и 1 E4 или 1 EZIP и 1 домен D и т.п.).

Раскрытие обеспечивает несколько конфигураций и архитектур для построения SAR с AABD, содержащими один или несколько доменов связывания адаптера. Некоторые из этих конфигураций были описаны в предыдущих разделах в описании полезных конфигураций для разработки SAR, включающих различные AABD. В одном воплощении раскрытие предусматривает, что удобное место для прикрепления домена связывания адаптера (например, RZIP, EZIP, K4, E4, NKG2D-YA, NKG2D-AF, домен D и т.п.) к SAR находится на уровне или вблизи N-конца одного или нескольких фрагментов, содержащих его антигенсвязывающий домен (например, vL, vH, scFv, AABD, vHH, FHVH, SVH, SVL, неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, Va, Vb, Vg, Vd, svd-TCR и т.п.) через дополнительный линкер. В воплощении SAR представляет собой одноцепочечный SAR. В другом воплощении SAR представляет собой многоцепочечный SAR. В одном воплощении необязательный линкер присутствует между связывающим

адаптер доменом SAR и одним или несколькими фрагментами, содержащими его антигенсвязывающий домен. В одном воплощении в раскрытии предлагается удобное место для присоединения домена связывания адаптера (например, RZIP, EZIP, K4, E4, NKG2D-YA, NKG2D-AF, домена D и т.п.) к SAR, которое находится на N- конце или вблизи N-конца линкера Ig, Ig-подобного линкера или длинного линкера (например, линкера длиной более 25 аминокислот), который, в свою очередь, присоединен к сигнальной цепи (например, соединительному пептиду TCR α , TCR β , TCR γ , TCR δ и т.п.). Раскрытие обеспечивает удобную конфигурацию и расположение для включения адаптеров, содержащих домены лейциновой молнии (например, RZIP, EZIP и т.п.), в SAR. В раскрытии также предлагаются удобные конфигурации и места для включения нескольких доменов связывания адаптеров. В раскрытии предлагаются SAR-конструкции, содержащие 1, 2, 3 или более доменов связывания адаптера, например, домены связывания адаптера, содержащие домены лейциновой молнии, домены D или другие домены взаимодействия с белком, описанные в настоящей заявке. В одном воплощении SAR содержат два или более домена связывания адаптера одного типа (например, 2 домена RZIP или 2 домена E4). В других воплощениях SAR содержат два или более связывающих адаптер домена разных типов (например, 1 RZIP и 1 E4 или 1 EZIP и 1 домен D и т.п.). В одном воплощении два или более доменов связывания адаптера расположены на одной и той же полипептидной цепи SAR. В одном воплощении два или более доменов связывания адаптера расположены на одной и той же полипептидной цепи SAR и отделены друг от друга линкерами. В примерных воплощениях линкер может быть гибким линкером (например, SEQ ID NO: 1024-1028) или расщепляемым протеазой линкером (см. Таблицу 19). В одном воплощении два или более доменов связывания адаптера расположены на разных полипептидных цепях многоцепочечного SAR (например, двухцепочечного SIR).

Примерные SAR, нацеленные на EZIP и CD19, представлены SEQ ID NO (DNA): 4341-4367. Примерные SAR, нацеленные на EZIP, CD22 и CD19, представлены SEQ ID NO (DNA): 4417-4463. Эти SAR-конструкции связываются с доменом EZIP через домен RZIP (SEQ ID NO (DNA): 1014 и SEQ ID NO (PRT): 11704). Иммунные клетки, экспрессирующие эти SAR, могут быть использованы для нацеливания на клетки, экспрессирующие CD19 и/или CD22, но могут быть перенаправлены на другие антигены в сочетании с подходящими антителами, фрагментами антител и AABD (например, неиммуноглобулиновыми антигенсвязывающими остовами), содержащими домен EZIP.

SAR также можно сконструировать путем замены домена RZIP (SEQ ID NO (DNA): 1014 и SEQ ID NO (PRT): 11704) из SAR в SEQ ID NO: 4341-4367 или 4417-4463 доменом

EZIP (SEQ ID NO (DNA): 1015 и SEQ ID NO (PRT): 11705). Иммунные клетки, экспрессирующие эти SAR, можно использовать для нацеливания на клетки, экспрессирующие CD19 и/или CD22, но их можно перенаправить на другие антигены в сочетании с подходящими антителами, фрагментами антител и AABD (например, неиммуноглобулиновыми антигенсвязывающими остовами), содержащими домен RZIP.

Примерный SAR на каркасе MC7G5, в котором домен CD20-vHH-2HCD25 заменен модулем связывания адаптера RZIP, представлен CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-RZIP-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C] и имеет нуклеотидный SEQ ID NO: 3699 и аминокислотный SEQ ID NO: 14389. Другие примерные SAR, в которых домен CD20-vHH-2HCD25 из SAR, перечисленных в таблице 27, заменен RZIP, представлены нуклеотидными SEQ ID NO: 3695-3792 и аминокислотными SEQ ID NO: 14385-14482 (таблица 28). Порядок этих конструкций аналогичен порядку конструкций, содержащих CD20-vHH-2HCD25, перечисленных в Таблице 27. Конструкции, содержащие RZIP, можно использовать в качестве универсальных SAR для нацеливания на различные антигены в сочетании с антигенсвязывающими доменами (например, scFv, FHVH, vHH, центриины и т.п.), содержащими модули EZIP, которые могут связываться с модулем RZIP, присутствующим в SAR. Примеры гибридных белков scFv-EZIP, нацеленных на различные антигены, представлены нуклеотидными SEQ ID NO:1333-1521 и аминокислотными SEQ ID NO:12023-12111. Эти примерные гибридные белки scFv-EZIP основаны на фрагментах scFv, представленных нуклеотидными SEQ ID NO: 530-766 и аминокислотными SEQ ID NO: 11220-11456 (таблица 3), и их антиген-мишень можно определить по антигенам-мишеням их scFv, как показано в таблице 3. В примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие SAR CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-RZIP-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C], могут быть направлены на ВСМА, экспрессирующий клетки миеломы путем введения субъекту гибридного белка ВСМА-J6M0-scFv-G4S-EZIP, представленного нуклеотидным SEQ ID NO: 1336 и аминокислотным SEQ ID NO: 12026. С другой стороны, Т-клетки, экспрессирующие SAR CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-RZIP-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C], могут быть направлены на CD19, экспрессирующий клетки лимфомы путем введения субъекту гибридного белка FMC63-scFv-G4S-EZIP, представленного нуклеотидным SEQ ID NO: 1341 и аминокислотным SEQ ID NO: 12031. Таким образом, Т-клетки, экспрессирующие SAR-конструкцию, содержащую модуль RZIP, могут служить универсальными клетками SAR-Т, которые могут быть направлены на различные антигены-мишени в сочетании с различными гибридными белками scFv-EZIP, нацеленными на эти антигены.

SAR, содержащие RZIP, также можно использовать в сочетании с гибридными белками EZip, не основанными на scFv. Примеры гибридных белков EZip, не основанных на scFv, нацеленных на различные антигены, представлены в виде нуклеотидных SEQ ID NO:1522-1590 и аминокислотных SEQ ID NO:12212-12280. Антигенсвязывающие домены (например, V_{HH}, SV_H, центриины и т.п.) этих гибридных белков EZip основаны на антигенсвязывающих доменах, представленных SEQ ID NO; 834-902, и аминокислотными SEQ ID NO:11524-11592, как показано в таблице 5. Дополнительные гибридные белки, содержащие EZIP, и способ их применения для перенаправления иммунных клеток, экспрессирующих конструкции, содержащие RZIP, описаны в Cho et al., Cell 173, 1426–1438, 2018, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой.

В данной области техники известен ряд дополнительных адаптеров и модулей связывания адаптеров. Примеры адаптеров и модулей связывания адаптеров перечислены в таблице 10. Раскрытие предусматривает, что SAR-конструкции могут быть сконструированы путем замены модулей RZIP SAR, описанных в предыдущих примерах, на E4 (SEQ ID NO: 1016), NKG2D-AF (SEQ ID NO: 1018), NKG2D-YA (SEQ ID NO: 1019), NKG2D-AF-G4Sx3-NKG2D-AF (SEQ ID NO: 1020), NKG2D-YA-G4Sx3-или NKG2D-YA (SEQ ID NO: 1021). Аналогично, модули EZIP в гибридных белках EZip, описанных в предыдущих примерах, могут быть заменены на K4 (SEQ ID NO: 1017), ULBP2R (SEQ ID NO: 1022) и ULBP2-S3 (SEQ ID NO: 1023).

В примерном воплощении SAR-конструкции, содержащие модули E4, можно использовать в сочетании с адаптерами SAR, содержащими K4, для клеток-мишеней, экспрессирующих антиген, являющийся мишенью для антигенсвязывающего домена (например, scFv, v_{HH}, FHV_H и т.п.) адаптеров SAR. Примеры SAR, содержащие модули E4, представлены SEQ ID NO: 4468-4490 и 4544-4590. Примерные адаптеры SAR, содержащие scFv и v_{HH}/FHV_H, присоединенные к домену K4, представлены SEQ ID NO (PRT): 12281-12469 и 12470-12538, соответственно, и их целевые антигены можно определить по целевым антигенам их scFv и v_{HH}/FHV_H, как показано в Таблице 3 и Таблице 5, соответственно.

Расположение модулей RZIP и EZIP может быть изменено таким образом, что домен связывания SAR-адаптера может содержать домен EZIP, а адаптеры SAR могут содержать RZIP. Точно так же расположение доменов K4 и E4 можно переключать между SAR и адаптером SAR.

В заявке WO2020159941, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой, описаны модифицированные неприродные домены $\alpha 1$ - $\alpha 2$ лигандов NKG2D (например, ULBP2R и ULBP2-S3) с присоединенными полипептидами, обладающими

специфичными свойствами связывания с мишенью, например, антителами или фрагментами антител, которые могут быть селективно доставлены к CAR, состоящему из модифицированных неприродных рецепторов NKG2D (например, NKG2D-AF и NKG2D-YA) на сконструированных клетках млекопитающих. Однако соответствующие композиция и конфигурация для включения неприродных рецепторов NKG2D в конструкции CAR следующего поколения (например, SIR, сTCR, Ab-TCR, TFP и/или TCR и т.п.) неизвестны.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается полезную композицию и конфигурацию для SAR, включающих неприродные рецепторы NKG2D (например, NKG2D-AF и NKG2D-YA и т.п.). В примерном воплощении раскрытие предусматривает, что подходящее место для включения неприродного рецептора NKG2D в SAR находится на N-конце или рядом с ним одного или нескольких фрагментов, содержащих его антигенсвязывающий домен (например, vL, vH, scFv, vHH, FHVH, SVH, SVL, неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, Va, Vb, Vg, Vd, svd-TCR и т.п.) через необязательный линкер. В воплощении SAR имеет одну цепь или более чем одну цепь. В одном из воплощений раскрытие предусматривает, что удобное место для включения неприродного рецептора NKG2D (NKG2D-YA, NKG2D-AF и т.п.) в SAR находится на N-конце или вблизи N-конца линкера Ig, Ig-подобного линкера или длинного линкера (например, линкера длиной более 25 аминокислот), который, в свою очередь, присоединен к сигнальной цепи (например, соединительный пептид TCR α , TCR β , TCR γ , TCR δ и т.п.). В раскрытии также предлагаются удобные конфигурации и места для включения множества неприродных рецепторов NKG2D. В раскрытии предлагаются SAR-конструкции, содержащие 1, 2, 3 или более неприродных рецепторов NKG2D. В одном воплощении SAR содержат два или более неприродных рецептора NKG2D одного типа (например, 2 домена NKG2D-YA или 2 домена NKG2D-AF). В других воплощениях SAR содержат два или более неприродных рецептора NKG2D разных типов (например, 1 NKG2D-AF и 1 NKG2D-YA и т.п.). В одном воплощении два или более неприродных рецептора NKG2D расположены на одной и той же полипептидной цепи SAR. В одном воплощении два или более неприродных рецептора NKG2D расположены на одной и той же полипептидной цепи SAR и разделены линкерами. В примерных воплощениях линкеры могут представлять собой гибкие линкеры (например, SEQ ID NO: 1024-1028) и/или линкеры, расщепляемые протеазами (см. Таблицу 19). В одном воплощении два или более неприродных рецептора NKG2D расположены на разных полипептидных цепях многоцепочечного SAR (например, двухцепочечного SIR).

В примерном воплощении SAR-конструкции, содержащие модули NKG2D-AF или

NKG2D-AF-G4Sx3-NKG2D-AF, можно использовать в сочетании с гибридными белками ULBP2R для клеток-мишеней, экспрессирующих антиген, являющийся мишенью антигенсвязывающего домена (например, scFv, vHH, FHVH и т.п.) последнего. Примерный гибридный белок ULBP2R, нацеленный на CD8SP-BCMA-FHVH93-GS-ULBP2R, представлен SEQ ID NO (DNA): 1013 и SEQ ID NO (PRT): 11703, и его можно использовать для перенаправления SAR, содержащего NKG2D-AF или модуль NKG2D-AF-G4Sx3-NKG2D-AF к клеткам, экспрессирующим BCMA.

В другом примерном воплощении SAR-конструкции, содержащие модули NKG2D-YA или NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA, можно использовать в сочетании с гибридными белками ULBP2-S3 для клеток-мишеней, экспрессирующих антиген, являющийся мишенью антигенсвязывающего домена (например, scFv, vHH, FHVH и т.п.) последнего. Примерный гибридный белок ULBP2-S3, нацеленный на CD8SP-BCMA-FHVH93-GS-ULBP2-S3, представлен SEQ ID NO (DNA): 1041 и SEQ ID NO (PRT): 11731, и его можно использовать для перенаправления SAR, содержащего NKG2D-YA или модуль NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA к клеткам, экспрессирующим BCMA. В другом примерном воплощении SAR, содержащий NKG2D-YA, представляет собой CD8SP-BCMA-FHVH93-G4S-EcoR1-humROO5-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgH-SP-NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 23102). Т-клетки, экспрессирующие этот SAR, нацелены на BCMA и CD19, но могут быть направлены на клетки-мишени, экспрессирующие PSMA, путем воздействия на надосадочную жидкость клеток, экспрессирующих конструкцию CD8SP-PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3-G2S2-streptagII-F-P3A-EcoR1-hGlul-nonopt-T2A-eGFPter (SEQ ID NO: 23114), который содержит PSMA, нацеленный на одноцепочечный vH, объединенный с ULBP2. В альтернативном воплощении раскрытие относится к SAR, кодирующему NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA (например, SEQ ID NO: 23102), который можно использовать в комбинации с полипептидом, кодирующим ULBP2-S3 (например, CD8SP-BCMA-FHVH93-GS-ULBP2-S3, SEQ ID NO: 11731) для нацеливания на клетки, экспрессирующие BCMA. Способы применения NKG2D-AF, NKG2D-YA и других неприродных вариантов NKG2D в комбинации с неприродными лигандами NKG2D (например, ULBP2R и ULBP2-S3), функционально связанными с гетерологичными белками, описаны в WO2019191243 и WO2020159941, которые включены в настоящую заявку полностью.

В одном из воплощений в раскрытии предлагается полезная композиция и конфигурация для SAR, включающая домены D, которые получены из сконструированного de novo α 3D. Домены D представляют собой

относительно небольшие (примерно 1/3 размера scFv), однодоменные структуры, в которых отсутствуют дисульфидные связи и N-связанное гликозилирование, и их можно сконструировать для минимизации иммуногенности (Qin et al, *Molecular Therapy* 27, 7, 2019). В одном из воплощений раскрытие предусматривает, что удобное место для присоединения домена D к SAR находится на N-конце или рядом с ним одного или нескольких из числа vL, vH, scFv, vHH, AABD, FHVH, SVH, SVL, неиммуноглобулинового антигенсвязывающего остова, фрагментов Va, Vb, Vg, Vd, svd-TCR, содержащих SAR через необязательный линкер. В примерном воплощении раскрытие предусматривает, что подходящее место для включения домена D в SAR находится на N-конце или вблизи него одного или нескольких фрагментов, содержащих его антигенсвязывающий домен (например, vL, vH, scFv, vHH, FHVH, SVH, SVL, неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, Va, Vb, Vg, Vd, svd-TCR и т.п.) через необязательный линкер. В воплощении SAR имеет одну цепь или более чем одну цепь. В одном воплощении раскрытие предусматривает, что удобное место для присоединения домена D, за которым следует необязательный линкер в SAR, находится на N-конце или рядом с N-концом линкера Ig, Ig-подобного линкера или длинного линкера (например, линкер длиной более 25 аминокислот), который, в свою очередь, присоединен к сигнальной цепи (например, соединительный пептид TCR α , TCR β , TCR γ , TCR δ и т.п.). В раскрытии также предлагаются полезные конфигурации и местоположения для включения нескольких доменов D. В раскрытии предлагаются SAR-конструкции, содержащие 1, 2, 3 или более доменов D. В одном воплощении SAR содержат два или более доменов связывания адаптера, состоящих из доменов D. В других воплощениях SAR содержат два или более домена связывания адаптера разных типов (например, 1 домен D и 1 RZIP и т.п.). В одном воплощении два или более домена D расположены на одной и той же полипептидной цепи SAR. В одном воплощении два или более домена D расположены в одной и той же полипептидной цепи SAR и разделены линкерами. В примерных воплощениях линкеры могут представлять собой гибкие линкеры (например, SEQ ID NO: 1024-1028) и/или линкеры, расщепляемые протеазами (см. Таблицу 19). В одном воплощении два или более домена D расположены на разных полипептидных цепях многоцепочечного SAR (например, двухцепочечного SIR).

В примерном воплощении SAR, содержащий домен D, нацеленный на белок p26, представляет собой CD8SP-Af03-G4S-EcoR1-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 23107). Т-клетки, экспрессирующие этот SAR, могут направляться клетками-мишенями, экспрессирующими CD123, путем экспонирования SAR-адаптера CD8SP-bc40-p26-

CD123-cg06-GGS-Nluc-FlagX4-Streptag-GGS-8XHis-T2A-PAC (SEQ ID NO: 23120), который экспрессирует p26, объединенный с доменом D, нацеленным на CD123. Способы применения белков, содержащих домен D, для нацеливания на обычные CAR-T-клетки описаны в WO 2019099440, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой.

Другие SAR, основанные на модульной архитектуре SAR, включающей домены связывания адаптера, описанные в предыдущих разделах, также входят в объем настоящего раскрытия.

В альтернативном воплощении связывающий адаптер домен SAR может содержать фрагменты vL и vH, которые объединяются с образованием Fv. В примерном воплощении SAR, нацеленный на Strep-метку, представлен CD8SP-CD19-FHVN-354-G4S3-Streptag-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-Streptag-vH-[hTCRa-T48C-opt] (SEQ ID NO (ДНК: 1992 и SEQ ID NO: (PRT): 12682). Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR и содержит фрагменты vL и vH, нацеленные на Strep-метку, прикрепленные к модулям [hTCRb-S57C-opt] и [hTCRa-T48C-opt], соответственно. Эта SAR-конструкция также содержит AABD (CD19-FHVN-354), нацеленный на CD19, который присоединен к N-концу фрагмента Strep-метка vL через гибкий линкер G4S3. Таким образом, этот SAR может нацеливаться на CD19 через домен CD19-FHVN-354, но, кроме того, может быть перенаправлен на другой антиген при использовании в сочетании с адаптером SAR, содержащим антигенсвязывающий фрагмент (например, антитело, фрагмент антитела, vHH, FHVN, неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов и т.п.), нацеленный на указанный антиген и содержащий Strep-метку. Примерные адаптеры SAR (например, scFv, vHH и т.п.), нацеленные на различные антигены и содержащие Strep-метку, представлены в таблицах 21 и 22. В примерном воплощении эта SAR-конструкция может также нацеливаться на клетки-мишени, экспрессирующие BCMA, в сочетании с адаптером SAR, нацеленным на BCMA и несущим одну или несколько Strep-меток. Например, адаптер SAR, нацеленный на BCMA, может быть экспрессирован в клетках млекопитающих путем экспрессии конструкций, представленных SEQ ID NO: 1247, 1248, 1276 или 1277, и очищенных из надосадочной жидкости.

Примерные SAR, нацеленные на FITC и CD19, представлены SEQ ID NO: 1978-1979 (таблица 25). Иммунные клетки, экспрессирующие эти SAR, можно использовать для нацеливания на клетки, экспрессирующие CD19, но, кроме того, они могут быть направлены для нацеливания на другие антигены с помощью соответствующих FITC-меченных антител, фрагментов антител и AABD (например, неиммуноглобулиновые антигенсвязывающие остовы).

Конструируемые SAR-конструкции могут быть нацелены на GCN4 с применением

фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на этот белок, как описано в WO2018075807. Примеры SAR-конструкций представлены SEQ ID NO: 22603-22614. Иммунные клетки, экспрессирующие эти SAR, могут быть направлены на другие антигены в сочетании с подходящими антителами или фрагментами антител, несущими метки GCN4. Примерные GCN4-метки представлены SEQ ID NO (PRT): 21467-21470. Примерные адаптеры SAR, включающие антигенсвязывающие фрагменты (например, scFv, vHH, FHVH и т.п.), содержащие N-концевые метки GCN4, которые можно использовать в сочетании с SAR, нацеленными на GCN4, для направления клеток, экспрессирующих SAR, на BCMA, PSMA, CD19, MUC16, IL13Ra2, CD19, CD123, MSLN, CD22, MPL (TPO-R), CD30, FLT3, CD33 и Her2, представлены SEQ ID NO (PRT): 21471-21484, соответственно. Дополнительные примерные антигенсвязывающие фрагменты, содержащие метки GCN4, и способы их применения представлены в WO 2018075807, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой.

Другие SAR, предназначенные для Strep-метки, FITC, GCN4 или любой другой метки или метки и основанные на модульной архитектуре SAR, описанной в предыдущем разделе, также входят в объем настоящего раскрытия.

В раскрытии также предлагаются композиции и полезные конфигурации для SAR, которые содержат модуль связывания Fc, способный связываться с антителами. Примерный SAR на каркасе MC7G5, в котором домен CD20-vHH-2HCD25 заменен областью связывания Fc низкоаффинного Fc-рецептора (CD16A-F158V или CD16A-V158), представлен CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD16-V158-v2-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C] и имеет нуклеотидный SEQ ID NO:3797 и аминокислотный SEQ ID NO:14487. Другие примерные SAR, в которых домен CD20-vHH-2HCD25 из SAR, перечисленных в таблице 27, заменен Fc-связывающей частью CD16A или его мутанта (например, CD16-V158-v2), представлены нуклеотидными SEQ ID NO: 3793-3890 и аминокислотными SEQ ID NO: 14483-14580 (таблица 28). Порядок этих конструкций аналогичен порядку конструкций, содержащих CD20-vHH-2HCD25, перечисленных в Таблице 27. Конструкции, содержащие CD16A или CD16A-F158V (CD16A-V158), можно использовать в качестве универсальных SAR для нацеливания на различные антигены в сочетании с антигенсвязывающими доменами (например, антителами, фрагментами антител, биспецифичными антителами и т.п.), содержащими Fc-модули, которые могут связываться с модулем CD16-V158, присутствующем в SAR. Таким образом, T-клетки, экспрессирующие SAR CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD16-V158-v2-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C], могут быть направлены на CD20-экспрессирующие клетки лимфомы путем введения субъекту ритуксимаба,

моноклонального антитела к CD20. С другой стороны, Т-клетки, экспрессирующие SAR CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD16-V158-v2-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C], могут быть направлены на раковые клетки, экспрессирующие Her2, путем введения субъекту Герцептина. Таким образом, Т-клетки, экспрессирующие SAR-конструкцию, содержащую модуль CD16-V158, могут служить универсальными SAR-Т-клетками, которые могут быть направлены на разные антигены-мишени в сочетании с модулем Fc, содержащим разные антитела или фрагменты антител, нацеленные на эти антигены. В одном воплощении SAR может содержать один или два модуля связывания Fc, например, один или два домена связывания Fc CD16. В одном воплощении каждая цепь двухцепочечного SAR содержит модуль CD16-V158. Другие SAR, содержащие Fc-связывающий домен CD16 и основанные на модульной архитектуре SAR, описанных в предыдущих разделах, также входят в объем настоящего раскрытия.

В раскрытии также предлагаются SAR, которые содержат один или несколько внеклеточных Fc-связывающих доменов, полученных из CD32 и CD64. Таким образом, модуль CD16A конструкции с SEQ ID NO: SEQ ID NO: 3797 может быть заменен модулем связывания Fc, полученным из CD32, для создания SAR, которые могут связываться с доменом Fc антител, фрагментами антител, включая биспецифичные и мультиспецифичные антитела. Другие SAR, которые содержат Fc-связывающий домен CD32 или CD64 и основаны на модульной архитектуре SAR, описанных в предыдущих разделах, также входят в объем настоящего раскрытия.

В одном воплощении в изобретении предложены одноцепочечные, полторацепочечные и двухцепочечные SAR с каркасом AABD-TCR, содержащие один или несколько доменов связывания адаптера, которые функционально присоединены к константным цепям TCR через промежуточные линкеры Ig. Примером такой конструкции является CD8SP-RZIP-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] (SEQ ID NO: 21609), который содержит домен RZIP, функционально присоединенный к укороченной цепи TCRb через линкер IgCL, и одиночный домен vH, нацеленный на PSMA (PSMA-chVH-71v2), функционально присоединенный к укороченной цепи TCRA через линкер IgG1-CH1. В примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие эту SAR-конструкцию, могут нацеливаться на клетки, экспрессирующие PSMA, посредством PSMA-chVH-71v2, но могут быть также перенаправлены на клетки, экспрессирующие BCMA, при воздействии гибридного белка BCMA-J6M0-scFv-G4S-EZIP, представленного нуклеотидным SEQ ID NO: 1336 и аминокислотным SEQ ID NO: 12026. В конструкции CD8SP-RZIP-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-RZIP-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] (SEQ ID NO: 21610) модуль PSMA-

chVH-71v2 заменен вторым модулем RZIP. Конструкции с SEQ ID NO: 21611 и 21622 аналогичны конструкциям с SEQ ID NO: 21609 и 21610 за исключением того, что модуль(и) RZIP заменен(ы) на модуль(и) E4. Т-клетки, экспрессирующие эти SAR-конструкции, могут быть перенаправлены на разные антигены при воздействии гибридного полипептида K4, содержащего разные антигенсвязывающие домены. Точно так же конструкции с SEQ ID NO: 21613 и 21614 аналогичны конструкциям с SEQ ID NO: 21609 и 21610, за исключением того, что модуль(и) RZIP заменен(ы) модулями NKG2D-AF. Конструкции с SEQ ID NO: 21615 и 21616 аналогичны конструкциям с SEQ ID NO: 21609 и 21610, за исключением того, что модуль(и) RZIP заменен(ы) модулями CD16-V158. SAR-конструкции с SEQ ID NO: от 21609 до 21616 аналогичны конструкциям SAR с SEQ ID NO: от 21617 до 21624, за исключением того, что [IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD] и [IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2 -6MD] заменены модулями [IgCL-TCRg-6MD] и [IgCL-TCRd-6MD]. Другие SAR, основанные на модульной архитектуре AABD-TCR, описанной в предыдущих разделах, также входят в объем настоящего раскрытия.

В одном воплощении в раскрытии предлагается двухцепочечный биспецифичный синтетический антигенный рецептор, содержащий две цепи, каждая из которых включает (a) по меньшей мере две антиген-специфичные нацеливающие области, (b) по меньшей мере один внеклеточный линкерный домен, (c) по меньшей мере один трансмембранный домен, (d) необязательный костимулирующий домен и (e) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, где одна антиген-специфическая нацеливающая область содержит фрагмент Va и/или Vb, полученный из Т-клеточного рецептора, который способен к димеризации с фрагментом Vb и/или Va, присутствующим во второй цепи, и второй антигенспецифичный нацеливающий домен содержит AABD. В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, отличный от scFv.

В одном воплощении в раскрытии предлагается двухцепочечный биспецифичный синтетический антигенный рецептор, содержащий две цепи, каждая из которых включает (a) по меньшей мере две антиген-специфичные нацеливающие области, (b) по меньшей мере один внеклеточный линкерный домен, (v) по меньшей мере один трансмембранный домен, (d) необязательный костимулирующий домен и (e) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, где одна антиген-специфическая нацеливающая область содержит фрагмент Vg и/или Vd, полученный из Т-клеточного рецептора, который способен к димеризации с фрагментом Vg и/или Vd, присутствующим во второй цепи, и второй антигенспецифичный нацеливающий домен содержит AABD. В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, отличный от scFv.

В раскрытии также представлена подходящая конфигурация для создания SAR

(например, биспецифичного или мультиспецифичного SIR). В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR (например, биспецифичный или мультиспецифичный SAR), содержащий AABD, который функционально связан с N-концом или вблизи N-конца доменов vL и/или vH. В одном из воплощений в раскрытии предлагается SAR (например, биспецифичный или мультиспецифичный SAR), содержащий AABD, который функционально связан с N-концом или вблизи N-конца доменов Va и/или Vb. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR (например, биспецифичный или мультиспецифичный SAR), содержащий AABD, функционально связанный с N-концом или вблизи N-конца доменов Vg и/или Vd. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR (например, биспецифичный или мультиспецифичный SAR), содержащий AABD, функционально связанный с N-концом или вблизи N-конца фрагментов vL, vH, Va, Vb, Vd, Vg, содержащих CAR (например, CAR 2-го поколения, например, BBz CAR), SIR, cTCR, Ab-TCR, $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP или TCR через необязательный линкер.

В раскрытии описывается, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного CAR включает присоединение одного или нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFv) к N-концу или вблизи доменов N-конца vL и/или vH, содержащих scFv такого CAR, через необязательный линкер. Примером биспецифичного SAR, основанного на остоле CAR, является CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-28z (SEQ ID NO: 4976).

В раскрытии описывается, что подходящая конфигурация для создания биспецифичного или мультиспецифичного SIR включает присоединение одного или нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFv) к N-концу или вблизи N-конца доменов vL и/или vH, содержащих Fv такого SIR, через необязательный линкер. Примером биспецифичного SAR на каркасе каркаса SIR является CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 4981).

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного cTCR включает присоединение одного или нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFv) к N-концу или вблизи N-конца доменов vL и/или vH, содержащих Fv такого cTCR, через необязательный линкер.

В раскрытии описывается, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного Ab-TCR включает присоединение одного или

нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFV) к N-концу или вблизи N-конца доменов vL и/или vH, содержащих Fv такого Ab-TCR через необязательный линкер.

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного TFP ϵ /TFP γ /TFP δ /TFP ζ включает присоединение одного или нескольких AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFV) к N-концу или вблизи N-конца доменов vL и/или vH такого TFP через необязательный линкер.

В раскрытии также представлена подходящая конфигурация для создания SAR (например, биспецифичного или мультиспецифичного SAR), включающего более одного (например, 2, 3, 4, 5 или более) AABD. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR (например, биспецифичный или мультиспецифичный SAR), содержащий AABD, функционально связанный с N-концом или вблизи N-конца другого AABD посредством необязательного линкера.

В одном воплощении в раскрытии предлагается подходящая конфигурация для получения биспецифичных и мультиспецифичных SAR, которые имеют одну цепь (например, CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, vFLIP-CAR, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ или TFP ζ и т.п.), две цепи (например, двухцепочечный SIR, двухцепочечный cTCR, двухцепочечный zSIR, двухцепочечный Ab-TCR, двухцепочечный TFP, двухцепочечный TCR и т.п.) или полторы цепи (например, полтороцепочечный cTCR или полтороцепочечный SIR)). Названия и SEQ ID NO примерных биспецифичных и мультиспецифичных SAR на различных каркасах, содержащих фрагменты vL и vH hu-mROO5-1, BCMA-FHVN-33, CD22-FHVN-158 и/или CD19-vHN-048, представлены в Таблица 31. Примерные конструкции SAR, в которых модули BCMA-FHVN-33, CD22-FHVN-158 и/или CD19-vHN-048 конструкций в таблице 31 заменены другими модулями AABD, представлены в таблице 32. Порядок каркасов, используемых в конструкциях в таблице 32, такой же, как порядок каркасов, используемых в конструкциях в таблице 31. В одном воплощении SAR имеет каркас CAR, например, CAR второго поколения. Примером такого одноцепочечного SAR с каркасом CAR 2-го поколения является CD8SP-BCMA-FHVN-33-G3Sx2-CD19-vHN-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-28z (SEQ ID NO: 5070). В одном воплощении SAR имеет каркас SIR, например, двухцепочечную SIR или полцепочечную цепь. Примером такого SAR с каркасом двухцепочечного SIR является CD8SP-BCMA-FHVN-33-G3Sx2-CD19-vHN-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-T48C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C] (SEQ ID NO: 5077). Примером такого SAR на каркасе полтороцепочечного SIR является

CD8SP-V5-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мyc-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС (SEQ ID NO: 5079). В одном воплощении SAR имеет каркас сTCR. В одном воплощении SAR имеет каркас Ab-TCR. Примерами таких SAR с каркасом Ab-TCR являются CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] (SEQ ID NO: 5095) и CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] (SEQ ID NO: 5097). В одном воплощении SAR имеет каркас TFP. Примерами SAR с каркасом TFP являются CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3e-ECDTMCP-opt2 (SEQ ID NO: 5098), CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3d-ECDTMCP-opt2 (SEQ ID NO: 5099) и CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-(vL-vH)-CD3g-ECDTMCP-opt2 (SEQ ID NO: 5100). В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, основанный не на scFV. В примерном воплощении необязательный линкер представляет собой линкер, расщепляемый протеазой. Примеры линкеров, расщепляемых протеазой, представлены в таблице 19. Примеры AABD включают, без ограничения указанным, домен SVH, домен vHH и неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, такой как дарпин, аффибоди, домен ZIP (например, RZIP, EZIP, E4, R4 и т.п.), аффилин, аднектин, аффитин, ободы, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атример, центирин, пронектин, антикалин, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo или его фрагмент; рецептор (например, CD16-V158A, NKG2D), лиганд (например, APRIL, тромбopoэтин) и т.п. В примерном воплощении AABD для включения в SIR представляет собой растворимый домен, т.е. не агрегирует при экспрессии в клетках млекопитающих. В примерном воплощении AABD для включения в SIR эффективно секретируется в надосадочную жидкость при экспрессии в клетках млекопитающих с помощью N-концевого сигнального пептида.

В раскрытии описывается, что подходящая конфигурация для создания биспецифичного или мультиспецифичного zSIR (см. WO 2019232503, включенная в настоящую заявку ссылкой) включает присоединение AABD к N-концу или вблизи N-конца домена vL и/или vH такого zSIR через необязательный линкер. В одном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий домен, основанный не на scFV. Примерный SAR на каркасе zSIR представляет собой CD8SP-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-РАС и представлен нуклеотидным SEQ ID NO:

5029 и аминокислотным SEQ ID NO: 15719. Примерный мультиспецифичный SAR на каркасе zSIR представляет собой CD8SP-BCMA-FHvH-33-G3Sx2-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-IgCL-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC и нацелен на BCMA, CD19 и CD20. Этот SAR представлен нуклеотидным SEQ ID NO: 5122 и аминокислотным SEQ ID NO: 15812. Поскольку SAR являются модульными по своей природе, различные модули этого SAR могут быть заменены на другие антигены. Таким образом, могут быть сконструированы SAR на каркасе zSIR и содержащие различные фрагменты vL/vH, нацеленные на различные антигены. Точно так же SAR на каркасе zSIR, в котором модуль CD20-vHH-2HCD25 заменен другим AABD, могут быть сконструированы для нацеливания на различные антигены. Наконец, линкерные домены (т.е. IgCL и IgG1-CH1) являются необязательными и могут быть заменены другими линкерами, перечисленными в таблице 13, при условии, что полученный SAR сохраняет свои функциональные свойства (т.е. связывание антигена, передача сигналов Т-клеток и т.п.).

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного cTCR включает присоединение AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFV) к N-концу или вблизи N-конца домена vL и/или vH таких cTCR через необязательный линкер. В примерном воплощении необязательный линкер представляет собой линкер, расщепляемый протеазой.

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного Ab-TCR включает присоединение AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFV) к N-концу или вблизи N-конца домена vL и/или vH такого Ab-TCR через необязательный линкер. В примерном воплощении необязательный линкер представляет собой линкер, расщепляемый протеазой.

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ -TFP включает присоединение AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFV) к N-концу или вблизи N-конца домена vL и/или vH такого $\alpha\beta$ TFP или $\gamma\delta$ -TFP через необязательный линкер.

В раскрытии описывается, что подходящая конфигурация для создания биспецифичного или мультиспецифичного одноцепочечного SAR (например, CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, TAC, ζ TFP, ϵ TFP, δ TFP, γ TFP, одноцепочечного SIR,

одноцепочечного сTCR или одноцепочечного сTCR и т.п.) включает присоединение AABD (например, антигенсвязывающих доменов, основанных не на scFV) к N-концу или вблизи N-конца домена vL и/или vH такого одноцепочечного CAR посредством необязательного линкера.

В раскрытии описано, что подходящая конфигурация для получения биспецифичного или мультиспецифичного rTCR (РЕКОМБИНАНТНЫЙ TCR) включает присоединение AABD к N-концу или вблизи N-конца домена Va и/или Vb такого rTCR через необязательный линкер. В примерном воплощении необязательный линкер представляет собой линкер, расщепляемый протеазой.

В раскрытии также предлагаются типичные биспецифичные и мультиспецифичные SAR, основанные на MC.7.G5 (или MC7G5), мономорфном TCR, родственном белку MHC класса I (MR1).

В раскрытии также предлагаются типичные биспецифичные и мультиспецифичные SAR на каркасе IG4, TCR, ограниченного NY-ESO-1, который нацелен на пептид NY-ESO1 SLLMWITQC (SEQ ID NO: 21461) в комплексе с HLA-A2.

В раскрытии также предлагаются примерные биспецифичные и мультиспецифичные SAR, основанные на TCR, ограниченном pp65 CMV, который нацелен на пептид NLVPMVATV pp65 CMV (SEQ ID NO: 21452) в комплексе с HLA-A2.

Примеры SAR, описанные в предыдущих примерах, состоят из AABD, функционально связанного с N-концом или вблизи N-конца цепи vL, vH, Va, Vb, Vg или Vd, содержащей SIR, сTCR, Ab-TCR, zSIR, α TFP, γ δ TFP или TCR. Настоящее раскрытие также обеспечивает новую платформу SAR, обозначенную AABD-TCR, в которой один или несколько AABD функционально связаны в кадре с модулем TCR без присутствия промежуточной цепи vL, vH, Va, Vb, Vg и/или Vd. В типичном AABD-TCR один модуль AABD функционально связан с соединительным пептидом первого модуля TCR через первый промежуточный линкерный домен, а второй AABD функционально связан с соединительным пептидом второго модуля TCR через второй промежуточный линкер. В различных воплощениях линкер представляет собой гибкий линкер (например, линкер Gly-Ser). В предпочтительном воплощении линкер содержит домен иммуноглобулина (Ig). В частности, домены IgCL (SEQ ID NO (DNA): 1142 и SEQ ID NO (PRT): 3536) и IgCH (SEQ ID NO (DNA): 1143-1157 и SEQ ID NO (PRT): 3537-3551) полученные из антител, служат удобными линкерами между AABD и цепью TCR. Дополнительные Ig-домены и/или Ig-подобные домены известны в данной области (например, таблица 13; SEQ ID NO (DNA): 1168-1175 и SEQ ID NO (PRT): 3562-3569) и могут служить полезными линкерами в альтернативном воплощении изобретения. В раскрытии также предлагаются новые

делеционные мутанты внеклеточных доменов Ig константных цепей TCR (например, C α , C β , C γ , C δ), которые могут служить линкером при конструировании SAR (SEQ ID NO: 11848-11865) (таблица 13). Внеклеточные Ig-домены константных цепей TCR (например, C α , C β , C γ или C δ) могут служить линкерами между антигенсвязывающим доменом (например, vL, vH, vHH, дарпин, FHvH и т.п.) и связывающими пептидами TCR (SEQ ID NO: 11867-11875) (Таблица 14) модулей TCR в SAR-конструкции с каркасом AABD-TCR, SIR или sTCR. В одном воплощении примерный модуль TCR представлен TCRA-wt2-opt-6MD (SEQ ID NO: 1112), TCRb-wt2-opt-6MD (SEQ ID NO: 1126), TCRg-6MD (SEQ ID NO: 1132) и TCRd-6MD (SEQ ID NO: 1139) или их функциональные варианты (таблица 12). В одном воплощении модули TCR способны рекрутировать по меньшей мере один сигнальный модуль TCR.

В одном воплощении в раскрытии предлагается двухцепочечный биспецифичный синтетический антигенный рецептор, где по меньшей мере одна цепь содержит (a) один или несколько антиген-специфичных нацеливающих доменов, (b) по меньшей мере один линкерный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11832-11865 или домены по меньшей мере с 70% гомологией SEQ ID NO: 11832-11865 (таблица 13) или их делеционные мутанты и функциональные варианты, (c) необязательный шарнирный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11888-11894, или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11832-11865 (таблица 13) или их делеционные мутанты и функциональные варианты; d) по меньшей мере один соединительный пептид, выбранный из SEQ ID NO: 11867-11875 (таблица 14), или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11867-11875, или их делеционные мутанты и функциональные варианты, (e) по меньшей мере один трансмембранный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11877-11881, или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11867-11875, или их делеционные мутанты и функциональные варианты, (f) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11883 -11886, где антиген-специфическая нацеливающая область содержит AABD. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, центрин, svd-TCR и т.п.)

В одном из воплощений раскрытие относится к двухцепочечному биспецифичному синтетическому антигенному рецептору, где каждая цепь содержит (a) один или несколько антиген-специфичных нацеливающих доменов, (b) по меньшей мере один линкерный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11832-11865, или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11832-11865 (таблица 13) или их делеционные мутанты и их функциональные варианты, (c) необязательный шарнирный домен, выбранный из SEQ

ID NO: 11888-11894, или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11832-11865 (таблица 13) или их делеционные мутанты и функциональные варианты; d) по меньшей мере один соединительный пептид, выбранный из SEQ ID NO: 11867-11875 (таблица 14), или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11867-11875, или их делеционные мутанты и функциональные варианты, (e) по меньшей мере один трансмембранный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11877-11881, или домены по меньшей мере с 70% гомологией с SEQ ID NO: 11867-11875, или их делеционные мутанты и функциональные варианты, (f) необязательный внутриклеточный сигнальный домен, выбранный из SEQ ID NO: 11883-11886, где антиген-специфическая нацеливающая область содержит AABD. В примерном воплощении AABD представляет собой антигенсвязывающий модуль, отличный от scFv (например, SVH, vHH, центирин и т.п.).

Примерный двухцепочечный биспецифичный SAR, нацеленный на CD22 и PSMA, представляет собой CD8SP-CD22-FHvH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] и представлен нуклеотидным SEQ ID NO:6492 и аминокислотным SEQ ID NO:17182. Одна из цепей этой конструкции содержит SVH, нацеленный на CD22 (CD22-FHvH-24), который объединен через линкер IgCL (11832) с модулем TCRg-6MD (SEQ ID NO: 11822), содержащим соединительный пептид, трансмембранный и цитозольный домен TCRg/TCR γ человека. Вторая цепь этой конструкции содержит SVH, нацеленный на PSMA (PSMA-chVH-71v2), который объединен через линкер IgG1-CH1 (11833) с модулем TCRd-6MD (SEQ ID NO: 11829), содержащим соединительный пептид, трансмембранный и цитозольный домен TCRd/TCR δ человека. Две цепи этого SAR разделены сайтом фурина (SEQ ID NO:11931) и саморасщепляющимся линкером P2A (SEQ ID NO (DNA): 1236 и SEQ ID NO (PRT): 11926).

Другим типичным двухцепочечным биспецифическим SAR, нацеленным на CD22 и PSMA, является CD8SP-CD22-FHvH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-wt-op2-6MD] (SEQ ID NO: 6521). Этот SAR похож на SAR, описанный в предыдущем разделе, за исключением того, что модуль TCRg-6MD заменен модулем TCRb-wt-opt2-6MD (SEQ ID NO (DNA): 1126 и SEQ ID NO (PRT): 11816), а TCRd-6MD заменен модулем TCRa-wt-opt2-6MD (SEQ ID NO (DNA): 1112 и SEQ ID NO (PRT): 11802).

Примерный двухцепочечный SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленный на CD20 и CD22, представляет собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-IgG1-Hinge-[TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-USC1-FHvH-160-IgG1-Hinge-v2-[TCRd-6MD] и представлен SEQ ID NO: 17883. Примерные SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленные на CD20 и CD22,

представляют собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-CD22-USC1-FHVH-160-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] (SEQ ID NO: 17868) и CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-USC1-FHVH-160-[IgG1-CH1-TCRd-6MD](SEQ ID NO: 17877). Примерные SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленные на BCMA и CD38, представляют собой CD8SP-BCMA-FHVH-74-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD38-FHVH-USC1-32184-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] и CD8SP-BCMA-FHVH-74-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-CD38-FHVH-USC1-32184-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] и представлены SEQ ID NO: 17912 и 17914. Примерные SAR на каркасе AABD-TCR, нацеленные на CD20 и CD19, представляют собой CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-CD19-FHVH-354-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] и CD8SP-CD20-vHH-USC1-2HC2D6-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD19-FHVH-354-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] и представлены SEQ ID No: 18016 и 18023, соответственно. Поскольку SAR являются модульными по своей природе, AABD вышеупомянутых SAR можно заменить на AABD, нацеленные на разные антигены, для разработки SAR, нацеленных на эти антигены. Примеры AABD представлены в таблицах 5, 7-10. Точно так же линкеры IgCL и IgG1-CH1 в AABD-TCR могут быть заменены другими линкерами. Примеры Ig-подобных линкеров представлены в таблице 13. Дополнительные Ig-подобные линкерные домены известны в данной области и могут использоваться в альтернативном воплощении изобретения. Наконец, модули TCRa-wt-opt2-6MD, TCRb-wt-opt2-6MD, TCRg-6MD и TCRd-6MD могут быть заменены их функциональными вариантами, включая мутанты и белковые домены с гомологией не менее 70% с последовательностями TCRa-wt-opt2-6MD, TCRb-wt-opt2-6MD, TCRg-6MD и TCRd-6MD на уровне аминокислот.

В таблице 33 представлены названия и SEQ ID NO нескольких одноцепочечных и двухцепочечных биспецифичных SAR-конструкций на каркасе AABD-TCR, нацеленных на CD22 и/или PSMA. В Таблице 34 представлены названия и SEQ ID NO нескольких одноцепочечных и двухцепочечных биспецифичных SAR-конструкций, нацеленных на разные антигены, которые получены путем замены SVH, нацеленного на CD22 и/или PSMA, из конструкции, указанной в Таблице 13, на SVH, нацеленный на разные антигены. Каркас (т.е. каркас за вычетом антигенсвязывающего домена) конструкций в Таблице 34 такой же, как каркасы конструкций, перечисленных в Таблице 33. Таким образом, SEQ ID конструкции с конкретной основной цепью, указанной в Таблице 34, может быть определен со ссылкой на Таблицу 33.

В одном аспекте настоящее изобретение описывает полезную конфигурацию SAR для нацеливания на два или несколько антигенов. В одном аспекте настоящее изобретение

описывает полезную конфигурацию SAR для нацеливания на два или более эпитопов одного или нескольких антигенов.

В некоторых воплощениях SAR может содержать или состоять из одного антигенсвязывающего домена, присоединенного к одной константной цепи Т-клеточного рецептора. Одноцепочечный SAR может соединяться с комплементарной цепью эндогенного TCR для сборки комплекса TCR/CD3, который способен связывать антиген, являющийся мишенью антигенсвязывающего домена SAR, и передавать сигнал Т-клеток. В некоторых воплощениях SAR может содержать или состоять из более чем одного антигенсвязывающего фрагмента (например, SVH, vHH, центирин и т.п.), которые соединены через линкер и, в свою очередь, присоединены к одной константной цепи Т-клеточного рецептора. В других воплощениях SAR содержит или состоит из двух антигенсвязывающих доменов, каждый из которых соединен в рамке считывания с отдельной константной цепью Т-клеточного рецептора. Например, антигенсвязывающий домен 1 соединяется с константной цепью TCR α (Ca), образуя функциональную единицу 1, а антигенсвязывающий домен 2 соединяется с константной цепью TCR β (Cb), образуя функциональную единицу 2. Две функциональные единицы такого SAR коэкспрессируются в одной и той же клетке, чтобы стать функционально активными. В некоторых воплощениях две функциональные единицы SAR коэкспрессируются с применением одного вектора, в то время как в других воплощениях две функциональные единицы коэкспрессируются в одних и тех же клетках с применением разных векторов. В некоторых воплощениях две функциональные единицы SAR коэкспрессируются путем трансфекции одной последовательности мРНК, которая кодирует обе функциональные единицы, в то время как в других воплощениях две функциональные единицы коэкспрессируются путем трансфекции двух разных последовательностей мРНК, каждая из которых кодирует одну функциональную единицу.

В еще одном воплощении SAR содержит или состоит из антигенсвязывающего домена, который соединен с одной константной цепью Т-клеточного рецептора (функциональная единица 1), но коэкспрессируется со второй константной цепью Т-клеточного рецептора. Предназначением второй константной цепи Т-клеточного рецептора в таком SAR является облегчение экспрессии на клеточной поверхности функциональной единицы 1 (например, антигенсвязывающего домена 1, присоединенного к константной цепи Т-клеточного рецептора). Таким образом, вторая константная цепь Т-клеточного рецептора может экспрессироваться сама по себе или экспрессироваться в виде гибридного белка, несущего эпитопную метку (например, MYC, V5, AcV5, G4Sx2, StrepTagII и т.п.), или экспрессироваться в виде гибридного белка, несущего любой

фрагмент нерелевантного белка (например, фрагмент vL или vH), который не мешает сборке и функционированию функциональной единицы 1. Например, SAR может содержать или состоять из антигенсвязывающего домена 1, присоединенного к $C\alpha$ (постоянная цепь $TCR\alpha$), и пустого (т.е. не имеющего антигенсвязывающего домена) $C\beta$ (постоянная цепь $TCR\beta$). Две функциональные единицы такого SAR коэкспрессируются в одной и той же клетке, чтобы стать функционально активными. В некоторых воплощениях две функциональные единицы SAR коэкспрессируются с применением одного вектора, в то время как в других воплощениях две функциональные единицы коэкспрессируются в одних и тех же клетках с применением разных векторов. В некоторых воплощениях две функциональные единицы SAR коэкспрессируются путем трансфекции одной последовательности мРНК, которая кодирует обе функциональные единицы, в то время как в других воплощениях две функциональные единицы коэкспрессируются путем трансфекции двух разных последовательностей мРНК, каждая из которых кодирует одну функциональную единицу.

Помимо AABD, антигенсвязывающий(ие) домен(ы) одноцепочечных SAR (например, химерных антигенных рецепторов 1-го, 2-го и 3-го поколения, $\epsilon/\gamma/\delta/TFP$, TAC и т.п.) и многоцепочечных SAR (например, SIR, zSIR, cTCR, ab-TCR, $\alpha\beta TFP$ или $\gamma\delta TFP$ и т.п.) могут включать антитело или фрагменты антител (vL , vH , Fv, Fab или scFv и т.п.). В некоторых SAR (например, SIR, zSIR, cTCR, Ab-TCR и т.п.) фрагменты vL и vH присоединены к разным константным цепям TCR или их фрагментам на их C-концах через необязательные линкеры, но соединяются вместе с образованием Fv, который сохраняет антигенсвязывающую специфичность исходного антитела, из которого получены фрагменты vL и vH . В случае биспецифичных и мультиспецифичных SAR один или несколько AABD функционально связаны на N-концах фрагментов vL и/или vH или рядом с ними.

В одном воплощении антигенсвязывающий(ие) домен(ы) SAR раскрытия содержит Fv (например, фрагмент vL и фрагмент vH , которые функционально связаны с разными константными цепями TCR и не присутствуют в варибельном формате одноцепочечного фрагмента или формате scFv) и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который специфичен в отношении того же антигена, который связывается с Fv, таким образом обеспечивая двухвалентную связывающую молекулу. В одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит Fv и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который специфичен в отношении того же антигена, что и Fv, но связывается с другими эпитопами на указанном антигене. Другими словами, антигенсвязывающий домен содержит Fv, который связывается с первым

эпитопом, и второй AABD (например, SVH, VNH, центирин и т.п.), который связывается со вторым эпитопом. Эпитопы могут перекрываться. Таким образом, антигенсвязывающий домен является бипаратопическим, и объем настоящего изобретения включает бипаратопный SAR. В еще одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит Fv и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VNH, центирин и т.п.), которые специфичны в отношении одного и того же антигена и связываются с одними и теми же эпитопами на указанном антигене. В еще одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит Fv и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VNH, центирин и т.п.), где фрагмент Fv не связывается с каким-либо конкретным антигеном со значительной аффинностью или связывается с незначительной аффинностью и просто служит в качестве каркаса для крепления одного или нескольких AABD.

Помимо vH и SVH, AABD, содержащий антигенсвязывающий домен SAR, может содержать другие домены, такие как, без ограничения указанным, домен vNH и неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, такой как дарпин, аффибоди, домен ZIP (например, RZIP, EZIP, E4, R4 и т.п.), аффилин, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атимер, центирин, пронектин, антикалин, домен Кунитца, белок с повторами Armadillo или его фрагмент; рецептор (например, CD16-V158A, NKG2D), лиганд (например, APRIL, тромбозептин) и т.п.

Примерные конфигурации SAR схематически представлены на фигурах 1-2 и в таблицах A1-A7.

В некоторых аспектах SAR содержит домены vL и vH, которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген и один или несколько AABD.

Таким образом, в некоторых аспектах SAR раскрытия содержит один, как правило, более одного домена VH, то есть одно или несколько однодоменных антител VH, и не содержит легких цепей. В предпочтительном воплощении AABD содержит по меньшей мере два однодоменных антитела VH (SVH).

Таким образом, в некоторых аспектах SAR раскрытия содержит один, как правило, более одного домена VNH, то есть одно или несколько однодоменных антител VNH, и не содержит легких цепей. В предпочтительном воплощении AABD содержит по меньшей мере два одиночных домена VNH.

Таким образом, в некоторых аспектах SAR раскрытия содержит один, как правило, более одного неиммуноглобулинового антигенсвязывающего каркаса, то есть один или несколько доменов, выбранных из дарпина, аффибоди, домена ZIP (например, RZIP, EZIP, E4, R4 и т.п.), аффилина, аднектина, аффитина, ободи, репободи, финомера, альфабоди,

авимера, атримера, центирина, пронектина, антикалина, домена Кунитца, белка с повторами Armadillo или их фрагмента. В воплощении SAR содержит два AABD. В одном воплощении SAR содержит Fv (т.е. фрагмент vL/vH, которые объединяются с образованием Fv) и по меньшей мере один AABD.

В некоторых воплощениях SAR раскрытия содержит по меньшей мере два AABD (например, два домена SVH или два домена VHH или один домен SVH и один домен VHH и т.п.), которые нацелены на один или несколько антигенов.

В некоторых воплощениях SAR раскрытия обычно содержит по меньшей мере два антигенсвязывающих домена, нацеленных на один или несколько антигенов.

В одном воплощении антигенсвязывающие домены SAR раскрытия содержат два или по меньшей мере два AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), которые специфичны для одного и того же антигена, таким образом обеспечивая двухвалентную связывающую молекулу. В одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит два или по меньшей мере два AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), которые специфичны в отношении одного и того же антигена, но связываются с разными эпитопами на указанном антигене. Другими словами, антигенсвязывающий домен содержит первый AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который связывается с первым эпитопом, и второй AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который связывается со вторым эпитопом. Эпитопы могут перекрываться. Таким образом, антигенсвязывающий домен является бипаратопическим, и объем настоящего изобретения включает бипаратопный SAR. В еще одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит два AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), которые специфичны в отношении одного и того же антигена и связываются с одними и теми же эпитопами на указанном антигене.

В одном воплощении антигенсвязывающие домены SAR раскрытия содержат Fv TCR (например, фрагмент Va/Vb или фрагменты Vg/Vd, которые функционально связаны с различными константными цепями TCR и не присутствуют в одноцепочечном формате TCR или формате scTCR) и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который специфичен в отношении того же самого антигена, который связывается TCR Fv, таким образом обеспечивая двухвалентную связывающую молекулу. В одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит TCR Fv (например, Va/Vb или Vg/Vd) и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который специфичен в отношении того же антигена, что и TCR Fv, но связываются с разными эпитопами на указанном антигене. Другими словами, антигенсвязывающий домен содержит TCR Fv, который связывается с первым эпитопом, и второй AABD

(например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который связывается со вторым эпитопом. Эпитопы могут перекрываться. Таким образом, антигенсвязывающий домен является бипаратопическим, и объем настоящего изобретения включает бипаратопный SAR. В еще одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит TCR Fv и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), которые специфичны в отношении одного и того же антигена и связываются с одними и теми же эпитопами на указанном антигене. В еще одном воплощении антигенсвязывающий домен содержит TCR Fv и по меньшей мере один AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), где фрагмент TCR Fv не связывается с каким-либо конкретным антигеном со значительной аффинностью или связывается с незначительной аффинностью и просто служит каркасом для крепления одного или нескольких AABD. В одном воплощении переменные фрагменты (т.е. Va, Vb, Vd/Vg) происходят от HLA-независимого TCR, т.е. TCR, который может связываться с антигеном независимо от молекулы HLA. Примерный HLA-независимый TCR содержит переменные фрагменты, которые могут связываться с белковыми антигенами, которые экспрессируются на клеточной поверхности (например, CD19, CD20, CD22, PSMA, Her2, мезотелин и т.п.).

В другом воплощении антигенсвязывающий домен содержит два AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), которые специфичны для двух разных антигенов, таким образом обеспечивая биспецифичный антигенсвязывающий домен. Другими словами, антигенсвязывающий домен содержит первый AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который связывается с первой мишенью, и второй AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), который связывается со второй мишенью. Таким образом, в некоторых воплощениях раскрытие относится к биспецифическим SAR.

Используемый в данном документе термин «биспецифичный SAR» или «биспецифичный антигенсвязывающий домен», таким образом, относится к полипептиду, который содержит связывающую молекулу, описанную в настоящей заявке, которая имеет сайт связывания, обладающий специфичностью связывания в отношении первого антигена-мишени, и второй полипептидный домен, который имеет сайт связывания, обладающий специфичностью связывания в отношении второго антигена-мишени, т.е. биспецифическая связывающая молекула обладает специфичностью в отношении двух мишеней. Первая мишень и вторая мишень не являются одним и тем же, т.е. являются разными мишенями, например белками; оба могут присутствовать на клеточной поверхности. Соответственно, описанная в данном документе биспецифическая связывающая молекула может избирательно и специфически связываться с клеткой, которая экспрессирует (или презентрует на своей клеточной поверхности) первую

мишень и вторую мишень. В другом воплощении связывающая молекула содержит более двух антигенсвязывающих доменов, образуя мультиспецифическую связывающую молекулу. Мультиспецифичный антигенсвязывающий домен, описанный в настоящей заявке, может в дополнение к связыванию с первой мишенью связывать одну или несколько дополнительных мишеней, то есть мультиспецифичный полипептид может связывать по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или более мишеней, при этом мультиспецифичный полипептидный агент имеет по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или более целевых сайтов связывания, соответственно.

Таким образом, антигенсвязывающие домены, которые содержат три или более AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.п.), также входят в объем изобретения.

Два или более AABD (например, SVH, VHH, центирин и т.д.) могут быть соединены линкером, например, полипептидным линкером. Линкер также может присутствовать между доменом vL и/или vH, содержащим Fv, и AABD. Подходящие линкеры, например, содержащие линкер, включают остатки GS, такие как (Gly₄Ser)_n, где n=от 1 до 10, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. Примеры линкеров представлены SEQ ID NO (DNA): 1025-1028 и SEQ ID NO (PRT): 11715-11718 (таблица 8).

Линкер также может присутствовать между доменами vL и vH, содержащими Fv из SAR, и связывающим пептидом константной цепи TCR, с которым функционально связаны домены vL и vH. Примеры таких линкеров представлены в таблице 13. В предпочтительном воплощении фрагмент vL из SAR функционально связан с линкером IgCL (SEQ ID NO: 11832), а фрагмент vH функционально связан с линкером IgG1-CH1. Примером такого SAR является CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-CD22-FHVVH-24-CD19-hu-mROO5-1-vH-[IgG1-CH1-TCRd-6MD], который представлен SEQ ID NO: 18093 (таблица 35). В другом предпочтительном воплощении фрагмент vL из SAR функционально связан с линкером TCRA-wt-opt-6ECD (SEQ ID NO:11848) или линкером TCRA-Ig-подобный-C1-Домен (SEQ ID NO: 11859) или их делеционным мутантом или вариантом, а комплементарный фрагмент vH функционально связан с линкером TCRb-wt-opt-6ECD (SEQ ID NO:11850) или линкером TCRb-Ig-подобный-C1-Домен (SEQ ID NO: 11861) или их делеционным мутантом или вариантом. Примером такого SAR является CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S3-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRA-T48C]-F-F2A-SP-CD22-FHVVH-24-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-S57C], который представлен SEQ ID NO: 18091. В другом предпочтительном воплощении фрагмент vL из SAR функционально связан с линкером TCRg-opt-6ECD ((SEQ ID NO:

11852) или TCRg-Ig-подобный-C1-Домен (SEQ ID NO: 11863) или их делеционный мутант или вариант, и комплементарный фрагмент vH функционально связан с линкером TCRd-opt-6ECD (SEQ ID NO: 11854) или доменом TCRd-Ig-подобный-C1 (SEQ ID NO: 11864) или их делеционным мутантом или вариантом. Примером такого SAR является CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRd-opt]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRg1-opt], который представлен SEQ ID NO: 14788. В некоторых воплощениях потенциально любой домен может служить линкером между фрагментами vL/vH и константными цепями TCR, который не влияет на способность фрагментов vL/vH объединяться с образованием Fv.

Следует отметить, что термин константная цепь TCR, используемый в данной заявке, включает TCRb-wt-opt-6ECD или TCR Ig-подобный домен C1, связывающий пептид TCR, трансмембранный домен TCR и цитозольный домен TCR. Различные константные цепи TCR и их делеционные и точечные мутанты представлены в таблице 12. Таким образом, домен TCRb-wt-opt-6ECD и домен TCRb-Ig-подобный-C1 представляют собой N-концевую часть константной цепи TCRb. Аналогично, домены TCRA-wt-opt-6ECD (SEQ ID NO:11848) или линкерный TCRA-Ig-подобный-C1-Домен (SEQ ID NO: 11859) представляют собой N-концевую часть константных цепей TCRA. Следовательно, другими словами, в некоторых SAR (например, двухцепочечный SIR и биспецифичный SAR, включающий такой SIR) фрагмент vL функционально связан с константной цепью TCRb, тогда как фрагмент vH функционально связан с константной цепью TCRA. Альтернативно, в некоторых SAR (например, SIR с двойной цепью или биспецифичный SAR, включающий, например, SIR) фрагмент vL функционально связан с константной цепью TCRA, тогда как фрагмент vH функционально связан с константной цепью TCRb. Точно так же в некоторых SAR (например, SIR с двойной цепью или биспецифичный SAR, включающий, например, SIR) фрагмент vL функционально связан с константной цепью TCR γ , тогда как фрагмент vH функционально связан с константной цепью TCR δ . Наконец, в некоторых SAR (например, SIR с двойной цепью или биспецифичный SAR, включающий, например, SIR) фрагмент vL функционально связан с константной цепью TCR δ , тогда как фрагмент vH функционально связан с константной цепью TCR γ .

В некоторых воплощениях один или несколько AABD, содержащих антигенсвязывающий домен SAR, функционально связаны с связывающим пептидом TCR с константной цепью (например, SEQ ID NO (DNA): 1177-1185; таблица 14) без промежуточных фрагментов vL/vH, Va/Vb или Vg/Vd. В таких конструкциях SAR, обозначенных как AABD-TCR, линкер необязательно и обычно присутствует между

AABD из SAR и связывающим пептидом с постоянной цепью TCR, с которым функционально связаны AABD. Примеры таких линкеров представлены в таблице 13. В предпочтительном воплощении один из AABD двухцепочечного SAR функционально связан с линкером IgCL (SEQ ID NO: 11832), а другой AABD функционально связан с линкером IgG1-CH1 (SEQ ID NO: 11833). Примером такого SAR с каркасом AABD-TCR является CD8SP-CD22-FHVN-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD] (SEQ ID NO: 6521). Другим примером такого SAR с каркасом AABD-TCR является CD8SP-CD22-FHVN-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-PSMA-chVH-71v2-[IgG1-CH1-TCRd-6MD] (SEQ ID NO: 6530). Альтернативный линкер Ig-CH1 представлен в SEQ ID NO: 11839-11847 (таблица 13) и может использоваться в альтернативном воплощении изобретения.

Один или несколько AABD (например, SVH, VHN, центрин и т.п.), которые образуют антигенсвязывающую единицу SAR по изобретению, «связывает» или «способен связывать» представляющий интерес антиген, т.е. мишени, антиген с достаточной аффинностью, такой как SAR, полезно в терапии для нацеливания на клетку или ткань, экспрессирующие антиген.

Используемый в данном документе термин «мишень» относится к биологической молекуле (например, антигену, пептиду, полипептиду, белку, липиду, углеводу), с которой может избирательно связываться полипептидный домен, имеющий сайт связывания. Мишень может быть, например, внутриклеточной мишенью (такой как внутриклеточный белок-мишень) или мишенью на поверхности клетки (такой как мембранный белок, например, рецепторный белок). Предпочтительно мишенью является мишень клеточной поверхности, такая как белок клеточной поверхности.

В одном воплощении мишенью антигенсвязывающего домена SAR является опухолевый антиген. В одном воплощении опухолевый антиген связан с гематологическим злокачественным новообразованием. В другом воплощении опухолевый антиген связан с солидной опухолью. В еще одном воплощении один или несколько антигенов, являющихся мишенями для SAR, выбраны из антигенов, перечисленных в таблице В с антигенами. Однако специалисту в данной области техники будет понятно, что другие опухолевые антигены также являются мишенями в рамках объема изобретения.

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен молекулы полипептида SAR связывается с антигеном в ассоциации с HLA-A2. Неограничивающие примеры антигенов, которые распознаются в ассоциации с HLA-A2, включают TARP, WT1, hTERT, gp100, тирозиназу, MART1, NY-ESO1, CMV pp65, EBV EBNA3c, HIV1 gag, HTLV1-Tax,

PR1, CMV pp65, EBV-EBNA3с, мутант Ras G12V и GAD.

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен молекулы полипептида SAR содержит аутоантиген или его фрагмент, который связывается с аутоантителом. Неограничивающие примеры аутоантигена включают Dsg1 и Dsg3.

В некоторых воплощениях изобретения антигенсвязывающий домен полипептидной молекулы SAR происходит из последовательности антитела дикого или недикого типа, фрагмента антитела, scFv, Fv, Fab, (Fab')₂ однодоменного антитела (SDAB), домена vH или vL, домена VHH верблюдовых или неиммуноглобулинового остова, такого как дарпин, аффибоди, аффилин, аднектин, аффитин, ободи, репободи, финомер, альфабоди, авимер, атимер, центирин, пронектин, антикалин, домен Куница, белок с повторами Armadillo, аутоантиген, рецептор или лиганд. В некоторых воплощениях кодируемый полипептид SAR содержит более одного антигенсвязывающего домена. В воплощениях антигенсвязывающий домен функционально связан непосредственно или через необязательный линкер с NH₂-концом домена TCR (т.е. с константными цепями TCR-альфа, TCR-бета1, TCR-бета2, pretc.R-альфа, пре-TCR-альфа-Del48, TCR-гамма или TCR-дельта). Нуклеотидные и аминокислотные последовательности нескольких примерных линкеров представлены в таблицах 11 и 13.

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен полипептидной молекулы SAR происходит из доменов vL и vH антитела, которые по отдельности функционально связаны с NH₂-концом двух константных цепей Т-клеточного рецептора (т.е. константных цепей TCR-альфа, TCR-бета1, TCR-бета2, pretc.R-альфа, пре-TCR-альфа-Del48, TCR-гамма или TCR-дельта, или их мутанты или варианты, как описано в настоящей заявке), чтобы вместе составить переменный фрагмент (Fv), который связывается со специфическим антигеном. Такой примерный SAR, нацеленный на CD19, представлен в CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (DNA SEQ ID NO:7348 и аминокислотный SEQ ID NO:18038). В этом SAR фрагмент vL, полученный из гуманизированного моноклонального антитела mROO5-1, моноклонального антитела к CD19, функционально связан с константной областью мутантной цепи TCRb человека [hTCRb-S57C], в то время как фрагмент vH, полученный из гуманизированного моноклонального антитела mROO5-1 функционально связан с константной областью мутантной цепи TCRα человека [hTCRa-T48C]. Этот SAR, имеющий каркас SIR, можно использовать для получения биспецифичных и мультиспецифичных SAR путем присоединения различных AABD к N-концу или вблизи N-концов фрагментов vL и/или vH. Таблица 29 включает SEQ ID No нескольких примерных биспецифичных и триспецифичных SAR на каркасе CD8SP-hu-mROO5-1-vL-

[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (DNA SEQ ID NO:7348 и аминокислотный SEQ ID NO:18038).

В некоторых воплощениях полипептид SAR имеет антигенсвязывающий домен, который экспрессируется в виде одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv) и присоединен к NH₂-концу одной из константных цепей Т-клеточного рецептора (т.е. константных цепей TCR- альфа, TCR-бета1, TCR-бета2, претс.Р-альфа, пре-TCR-альфа-Del48, TCR-гамма или TCR-дельта, их вариантов или мутантов). Примером такого SAR (SIR) является CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС (DNA SEQ ID NO: 7352 и PRT SEQ ID NO: 18042). Этот SAR, имеющий каркас SIR, можно использовать для получения биспецифичных и мультиспецифичных SAR путем присоединения различных AABD к N-концу scFv или вблизи него. Таблица 29 включает SEQ ID No нескольких типичных биспецифичных и триспецифичных SAR, основанных на SAR CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС (DNA SEQ ID NO: 7352 и PRT SEQ ID NO: 18042). Примером такого биспецифичного SAR, нацеленного на CD19 и CD22, является CD8SP-V5-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-Gly-Ser-Линкер-hu-mROO5-1-vH-Мус-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС (DNA SEQ ID NO: 4127 и аминокислотный SEQ ID NO: 14817).

В некоторых воплощениях AABD двух полипептидных цепей двухцепочечных SAR сходны по структуре (например, оба AABD представляют собой домен SVH или VHH верблюдовых, или аффибоди, или центирины). В одном воплощении AABD двух полипептидных цепей двухцепочечных SAR не являются сходными по структуре (например, первый антигенсвязывающий домен представляет собой SVH, а второй антигенсвязывающий домен представляет собой VHH верблюдовых).

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен кодируемых полипептидов SAR кодируется кодон-оптимизированной нуклеотидной последовательностью, соответствующей последовательности дикого типа или антитела с последовательностью не дикого типа, однодоменных антител (SDAB), доменов VH, доменов VL, доменов VHH верблюдовых или неиммуноглобулиновым остовам, таким как дарпин, аффибоди, аффилины, аднектины, аффитины, ободи, репободи, финомеры, альфабоди, авимеры, атримеры, центирины, пронектины, антикалины, домены Кунитца, белки с повторами Armadillo, аутоантиген, рецепторы или лиганды.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных

последовательностей вариабельного домена легкой цепи (vL или VL) SEQ ID NO: 10736-10972, где вплоть до 20 аминокислотных остатков, но не более 21 аминокислоты, заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 70-99,9% идентичностью с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO 10736-10972, или последовательностями с 70-100% идентичностью с областями, определяющими комплементарность (CDR) SEQ ID NO: от 10736 до 10972, или последовательностями с заменами до 3 аминокислот в каждой из трех определяющих комплементарность областей от 10736 до 10972. В таблице 3 показаны антигены-мишени, названия, SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT), SEQ ID NO (PRT) для scFv примерных доменов vL, используемых в данном раскрытии. В одном воплощении домены vL могут быть полностью человеческими, гуманизированными, химерными или нечеловеческими по происхождению.

В некоторых воплощениях кодируемые один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей вариабельного домена тяжелой цепи (vH или VH) SEQ ID NO: 10978-11214, где вплоть до 20 аминокислотных остатков, но не более 21 аминокислоты, заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 70-99,9% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO. В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей вариабельного домена тяжелой цепи (vH или VH) SEQ ID NO: 10978-11214, в которых до 20 аминокислотных остатков, но не более 21 аминокислоты, заменены любыми другими аминокислотными остатками, или последовательности с 70-99,9% идентичности аминокислотным последовательностям SEQ ID NO: 10978-11214, или последовательностям, на 70-100% идентичным областям, определяющим комплементарность (CDR) SEQ ID NO: 10978-11214, или последовательностям, содержащим до 3 аминокислотных замен в любой из трех определяющие комплементарность областей SEQ ID NO: 10978-11214. В таблице 3 показаны антигены-мишени, названия, SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT), SEQ ID NO (PRT) scFv примерных доменов vL, используемых в данном раскрытии. В одном воплощении домены vH могут быть полностью человеческими, гуманизированными, химерными или нечеловеческими по происхождению.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей однодоменных антител верблюдовых (vHH или VHH) SEQ ID NO:

11517-11592, где вплоть до 20 аминокислотных остатков, но не более 21 аминокислоты, заменены любыми другими аминокислотными остатками, или последовательностей с 70-99,9% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO 11517-11592, или последовательностей с заменами до 3 аминокислот в любой из трех областей, определяющих комплементарность (CDR) SEQ ID NO 11517-11592. В таблице 5 показаны антигены-мишени, названия, SEQ ID NO (DNA) и SEQ ID NO (PRT) примерных доменов vHH, использованных в данном раскрытии. В примерном воплощении домены vHH могут быть гуманизированными, химерными или нечеловеческими.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей неиммуноглобулиновых антигенсвязывающих остовов SEQ ID NO: 11662-11673, где вплоть до 20 аминокислотных остатков, но не более 21 аминокислоты, заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 70-99% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO: 11662-11673. В таблице 7 показаны антигены-мишени, названия, SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT), названия типичных неиммуноглобулиновых антигенсвязывающих остовов, используемых в данном описании.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей рецептора SEQ ID NO 11674-11691, где вплоть до 20 аминокислот, но не более 21 аминокислоты, заменены любыми другими аминокислотными остатками или последовательностей с 70-99,9% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO: 11674-11691. В таблице 8 показаны SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT) и названия рецепторов, которые можно использовать при конструировании SAR.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат аминокислотные последовательности аутоантигена SEQ ID NO:11687, где до 19 аминокислотных остатков, но не более 20 аминокислот, заменены любыми другими аминокислотными остатками, или последовательности с 70-100% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO 11687. В таблице 8 показаны SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT) и название примерного аутоантигена.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов молекулы SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей лиганда SEQ ID NO: 11692-11702, в которых заменено до 20

аминокислотных остатков, но не более 21 аминокислоты, любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 70-100% идентичностью аминокислотным последовательностям SEQ ID NO:11692-11702. В таблице 9 показаны SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT) и названия различных примерных лигандов.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько аминокислотных последовательностей scFv SEQ ID NO:11220-11456, в которых заменено до 40 аминокислотных остатков, но не более 41 аминокислоты, любыми другими аминокислотными остатками или последовательностями с 70-100% идентичностью с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO 11220-11456 или последовательностями с 70-100% идентичностью в шести определяющих комплементарность областях (CDR) в каждой из SEQ ID NO 11220 -11456 или последовательностей, содержащих до 3 замен в любой из шести областей, определяющих комплементарность (CDR), в каждой из SEQ ID NO:11220-11456. В таблице 3 показаны антигены-мишени, SEQ ID NO (DNA), SEQ ID NO (PRT), названия и аминокислотные последовательности примерных scFV, используемых в данном раскрытии. В одном воплощении scFv может быть полностью человеческим, гуманизированным, химерным или нечеловеческим по происхождению.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько антигенсвязывающих частей, например, CDR, фрагментов vL и vH, нацеленных на этот антиген, или доменов, содержащих до 3 аминокислотных замен в любом CDR фрагментов vL и vH, перечисленных в таблице 3. Последовательности CDR1-3 фрагментов vL и vH, перечисленных в таблице 3, можно определить способами, известными в данной области.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько антигенсвязывающих частей, например CDR, фрагментов vHH, нацеленных на этот антиген. SEQ ID NO фрагментов vHH, нацеленных на различные антигены, перечислены в таблице 5, и последовательности их соответствующих CDR1-3 можно определить способами, известными в данной области.

В одном воплощении антигенсвязывающий домен SAR представляет собой антигенсвязывающую часть рецептора, о котором известно, что он связывает этот антиген-мишень.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько антигенсвязывающих

областей рецептора, содержащего полипептид SAR.

В некоторых воплощениях кодируемые один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько антигенсвязывающих областей рецептора, содержащего полипептид SAR.

В некоторых воплощениях кодируемый один или несколько антигенсвязывающих доменов полипептида SAR содержат любую одну или несколько антигенсвязывающих областей неиммуноглобулинового остова, содержащего полипептид SAR.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются SAR, которые связываются с одним и тем же эпитопом на разных мишенях, описанных в таблицах 25-36, как и любой из SAR раскрытия (т.е. SAR, которые обладают способностью перекрестно конкурировать за связывание с разными мишенями с любыми из SAR раскрытия). В некоторых воплощениях антигенспецифичные домены этих SAR могут быть определены из фрагментов vL, фрагментов vH и/или фрагментов scFv антител, которые использовались в качестве компонента SAR. В некоторых воплощениях референсные антитела для исследований перекрестной конкуренции для определения целевого эпитопа, распознаваемого SAR раскрытия, описанному в таблицах 25-36, представляют собой vL, vH, scFvs, SVH, vHH, неиммуноглобулиновые антигенсвязывающие домены, имеющие SEQ ID No, показанные в Таблицах 3-9. В примерном воплощении референсный scFv hu-mROO5-1, представленный SEQ ID NO: 11323, можно использовать в исследованиях перекрестной конкуренции для определения эпитопа-мишени, распознаваемого SAR на каркасе hu-mROO5-1 согласно настоящему изобретению, описанному в таблицах 25-36. В некоторых воплощениях референсные фрагменты AABD для исследований перекрестной конкуренции для определения целевого эпитопа, распознаваемого SAR раскрытия, описанному в Таблицах 25-36, представляют собой фрагменты AABD, имеющие SEQ ID NO, как показано в Таблице 5. В некоторых воплощениях референсные неиммуноглобулиновые антигенсвязывающие остовы для исследований перекрестной конкуренции для определения эпитопа-мишени, распознаваемого SAR раскрытия, описанного в Таблицах 25-36, представляют собой AABD на основе неиммуноглобулиновых антигенсвязывающих остовов, имеющих последовательности, представленные в таблице 7. В некоторых воплощениях референсные лиганды для исследований перекрестной конкуренции для определения эпитопа-мишени, распознаваемого SAR раскрытия, описанному в Таблицах 25-36, представляют собой лиганды, имеющие SEQ ID No, указанные в Таблице 9. В некоторых воплощениях референсные SAR для перекрестных конкурентных исследований против SAR, нацеленных на разные мишени, представляют собой SAR, имеющие SEQ ID No,

перечисленные в таблицах 25-36.

Описанные в данном документе SAR могут кодироваться одной полинуклеотидной цепью и транслироваться в одну полипептидную цепь, которая впоследствии расщепляется на разные белки. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая SAR, может содержать одну или несколько лидерных последовательностей (также известных как сигнальный пептид). В одном воплощении каждой функциональной единице (например, антигенсвязывающему домену, присоединенному к константной цепи Т-клеточного рецептора плюс линкер, расщепляемый фурином-SGSG, или константной цепи Т-клеточного рецептора плюс линкер, расщепляемый фурином-SGSG) из SAR может предшествовать лидерная последовательность, кодирующая сигнальный пептид, который направляет SAR на клеточную поверхность в виде трансмембранного белка I типа. В одном воплощении антигенсвязывающий домен SAR обращен наружу клетки. В некоторых воплощениях короткие нуклеотидные последовательности (3-9 нуклеотидов), содержащие сайты рестрикционных ферментов, расположены между различными субъединицами SAR, например, между сигнальной последовательностью и антигенсвязывающим доменом SAR или между антигенсвязывающим и антигенсвязывающим доменом цепи TCR.

В одном воплощении SAR могут быть получены с различными константными цепями TCR. Константные цепи TCR могут кодироваться их последовательностями дикого типа, последовательностями недикого типа или последовательностями с оптимизированными кодонами. Кроме того, константные цепи TCR могут нести определенные мутации (например, константная цепь TCR β с одной или несколькими мутациями для усиления их экспрессии на клеточной поверхности и/или спаривания друг с другом и для уменьшения спаривания с эндогенными цепями TCR. Примеры цепей TCR, которые можно использовать при построении SAR, представлены в таблице 12. Мутации в домене TCR из SAR модифицируют аффинность связывания и/или экспрессию SAR с мишенью или клеткой, соответственно. Например, в раскрытии рассматривается разнообразная популяция SAR против конкретного антигена-мишени, которую можно сконструировать и подвергнуть скринингу на основе оптимизации кодонов нуклеотидной последовательности и/или мутации в цепи TCR для стимуляции спаривания или экспрессии и/или использования линкера между доменом связывания и доменом TCR. В некоторых воплощениях иммунная эффекторная клетка, экспрессирующая SAR из пула, демонстрирует более чем 2-кратное, более чем 5-кратное, более чем 10-кратное и даже более чем 100-кратное различие в одной или нескольких характеристиках, выбранных из группы аффинности связывания антигена, экспрессии на клеточной поверхности,

клеточной сигнализации, репортерной активности NFAT, цитотоксичности, секреции цитокинов, пролиферации, персистенции *in vivo*, экспрессии маркеров истощения и активности *in vivo* по сравнению с сопоставимой иммунной эффекторной клеткой, экспрессирующей другой SAR из пула, содержащего тот же связывающий домен (например, связывающий домен, полученный из того же scFv, что и присутствующий в тестируемом SAR), при анализе в аналогичных условиях. В настоящем описании рассматривается библиотека молекул X-SAR, в которой X представляет собой антигенсвязывающий домен-мишень, так что библиотека или «пул» обеспечивает SAR с различной аффинностью связывания, уровнями экспрессии и функциональными характеристиками (например, цитотоксичностью, продуцированием цитокинов и долговременной стойкостью). В некоторых воплощениях SAR в пуле имеют более чем 2-кратное, обычно более чем 5-кратное, еще более предпочтительно более чем 10-кратное и еще более типично более чем 100-кратное различие в одной или нескольких выбранных характеристиках из группы аффинности связывания антигена, экспрессии на клеточной поверхности, цитотоксичности, секреции цитокинов, пролиферации Т-клеток, персистенции Т-клеток, истощения Т-клеток и активности *in vivo* при экспрессии в иммунной эффекторной клетке по сравнению с другим SAR в пуле, содержащем тот же связывающий домен (например, связывающий домен, полученный из того же scFv, который присутствует в тестируемом SAR) при анализе в аналогичных условиях. Различные SAR в пуле могут быть помечены разными штрих-кодами ДНК, чтобы их можно было идентифицировать с помощью секвенирования следующего поколения или других методов, известных в данной области. Примеры штрих-кодов представлены SEQ ID NO: 25-30. Штрих-коды могут быть вставлены в вектор, кодирующий SAR, в удобном месте, чтобы они не мешали экспрессии SAR. В примерном воплощении штрих-коды вставляются непосредственно после стоп-кодона SAR. Специалист в данной области может провести скрининг таких пулов для выявления X-SIR с желаемой аффинностью связывания, уровнем экспрессии или функциональными характеристиками, используя любой один или несколько анализов, описанных в настоящей заявке. Различные SAR или разные пулы SAR могут подходить для разных заболеваний и болезненных состояний и могут комбинироваться для создания разнообразного и поликлонального иммунного ответа. Таким образом, Т-клетка, экспрессирующая SAR с более высокой аффинностью к мишени, может быть более эффективной в уничтожении опухолевой клетки в краткосрочной перспективе, но может быстро истощаться и/или иметь краткосрочное персистирование *in vivo*. Такие Т-клетки, экспрессирующие SAR с высокой аффинностью, могут быть объединены с Т-клетками, экспрессирующими SAR с низкой аффинностью,

которые могут быть не столь эффективными для уничтожения опухолевых клеток в краткосрочной перспективе, но могут быстро не истощаться и/или дольше персистировать *in vivo*. SAR раскрытия, включая различные пулы SAR, также можно комбинировать с другими генетически сконструированными Т-клетками, такими как SAR-NK-клетки, для создания разнообразного иммунного ответа. Соответственно, в раскрытии предлагается библиотека X-SAR.

В одном из воплощений внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR α или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β или ее фрагмент. В одном из воплощений внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR γ или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR δ или ее фрагмент. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь pTcR α , тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β . В одном воплощении линкерный домен одного из полипептидов содержит линкер, указанный в SEQ ID NO: 11832, а линкерный домен второго полипептида содержит один из линкеров, выбранных из SEQ ID NO: 11833-11847.

В некоторых воплощениях SAR раскрытия содержит две полипептидные цепи, одна из которых имеет общую формулу:

AABD (n) — необязательный линкер1-vL-необязательный линкер2-внеклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n)

где n равно 1 или более; а вторая цепь, имеет общую формулу: AABD (n)— необязательный линкер3-vH-необязательный линкер4-внеклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 0 или более; В одном воплощении n равно по меньшей мере 1, например 1, 2, 3, 4 или 5. В одном воплощении vL одного полипептида объединяется с vH другого полипептида с образованием вариабельного фрагмента (Fv), который связывается с антигеном. В одном воплощении vL одного полипептида объединяется с vH другого полипептида с образованием вариабельного фрагмента (Fv), который не связывается с антигеном и служит только в качестве основы или каркаса для прикрепления AABD. AABD также образует антигенсвязывающий домен и располагается на внеклеточной стороне при экспрессии в клетке. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR α или ее фрагмент,

тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β или ее фрагмент. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR γ или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR δ или ее фрагмент. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь preTCR α , тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β . В одном воплощении линкерный домен 2 одного из полипептидов содержит линкер, указанный в SEQ ID NO: 11832, а линкерный домен 4 второго полипептида содержит один из линкеров, выбранных из SEQ ID NO: 11833-11847. В воплощении линкер 2 и линкер 4 являются необязательными. В одном воплощении линкер 1 и линкер 3 содержат линкеры с SEQ ID NO: 11715-11717. В одном воплощении линкер 1 и линкер 3 являются необязательными. Примеры SAR схематически представлены на фигурах 1-2 и в таблицах A1-A7.

В некоторых воплощениях SAR раскрытия содержит две полипептидные цепи, одна из которых имеет общую формулу:

AABD (n) — необязательный линкер1-внеклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 1 или более; а вторая цепь имеет общую формулу

AABD (n) — необязательный линкер3-scFv-необязательный линкер4-внеклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 0 или более; В одном воплощении n равно по меньшей мере 1, например 1, 2, 3, 4 или 5. В одном воплощении scFv связывается с антигеном. AABD также образует антигенсвязывающий домен и располагается на внеклеточной стороне при экспрессии в клетке. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR α или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β или ее фрагмент. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR γ или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR δ или ее фрагмент. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь preTCR α , тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β . В одном воплощении линкерный домен 2 одного из полипептидов содержит линкер, указанный в SEQ ID NO:

11832, а линкерный домен 4 второго полипептида содержит один из линкеров, выбранных из SEQ ID NO: 11833-11847. В воплощении линкер 2 и линкер 4 являются необязательными. В одном воплощении линкер 1 и линкер 3 содержат линкеры с SEQ ID NO: 11715-11717. В одном воплощении линкер 1 и линкер 3 являются необязательными.

Примерные SAR схематически представлены в таблицах A1-A7 и на фигурах 1-2.

В некоторых воплощениях SAR раскрытия содержит две полипептидные цепи, одна из цепей имеет общую формулу: AABD (n) — необязательный линкер1-Va-необязательный линкер2-внутриклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 1 или более; и вторая цепь, имеющая общую формулу AABD (n)—необязательный линкер3-Vb-необязательный линкер4-внутриклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 0 или более; В одном воплощении n равно по меньшей мере 1, например 1, 2, 3, 4 или 5. В одном воплощении Va одного полипептида объединяется с Vb другого полипептида с образованием варибельного фрагмента TCR (TCR-Fv), который связывается с антигеном. AABD также образует антигенсвязывающий домен и располагается на внеклеточной стороне при экспрессии в клетке. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR α или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR β или ее фрагмент.

В некоторых воплощениях SAR раскрытия содержит две полипептидные цепи, одна из цепей имеет общую формулу: AABD (n) — необязательный линкер1-Vg-необязательный линкер2-внутриклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 1 или более; и вторая цепь, имеющая общую формулу AABD (n)—необязательный линкер3-Vd-необязательный линкер4-внутриклеточный домен-трансмембранный домен-необязательный внутриклеточный сигнальный домен(n), где n равно 0 или более; В одном воплощении n равно по меньшей мере 1, например 1, 2, 3, 4 или 5. В одном воплощении Vg одного полипептида объединяется с Vd другого полипептида с образованием варибельного фрагмента TCR (TCR-Fv), который связывается с антигеном. AABD также образует антигенсвязывающий домен и располагается на внеклеточной стороне при экспрессии в клетке. В одном воплощении внеклеточный и трансмембранный домен одной полипептидной цепи содержит константную цепь TCR γ или ее фрагмент, тогда как внеклеточный и трансмембранный домен другой полипептидной цепи содержит константную цепь TCR δ или ее фрагмент.

В некоторых воплощениях полинуклеотид SAR и полипептиды по настоящему изобретению имеют каркас двухцепочечного SIR, полуторацепочечного SIR, двухцепочечного сTCR, полуторацепочечного сTCR, двухцепочечного ab-TCR, одно- и полуторацепочечный ab-TCR, AABD-TCR, одноцепочечный TFP, двухцепочечный TFP, CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, CAR 3-го поколения, TAC, TCR и т.п.

В данной области техники описаны биспецифичные и мультиспецифичные одноцепочечные химерные антигенные рецепторы (CAR) с каркасом из CAR 2-го поколения или CAR 3-го поколения. Эти конструкции CAR обычно состоят из двух или более scFv, которые присоединены тандемно к шарнирному, трансмембранному, костимуляторному и активационному домену. Основная проблема с такими биспецифичными и мультиспецифичными конструкциями заключается в неспецифической агрегации доменов scFv, что приводит к плохой экспрессии, уменьшенному связыванию с одним или несколькими антигенами-мишенями, уменьшению передачи сигналов, уменьшению эффекторной функции, тонической сигнализации, раннему истощению и уменьшению эффективности *in vivo*. Таким образом, недавно сообщалось, что в клинических испытаниях биспецифичная конструкция CAR 2-го поколения, нацеленная как на CD19, так и на CD20, показала более низкую эффективность по сравнению с моноспецифичной конструкцией CD19 CAR. Биспецифичные и мультиспецифичные конструкции на основе SIR описаны в WO2018102795. Эти биспецифичные и мультиспецифичные двухцепочечные конструкции SIR состоят из двух фрагментов scFv или двух vHH, нацеленных на две разные константные цепи TCR. Также были описаны альтернативные конфигурации, такие как один scFv, присоединенный к первой константной цепи TCR, и не относящийся к scFv антигенсвязывающий домен (например, vHH или дарпин или аффибоди), присоединенный ко второй константной цепи TCR. Однако, подобно одноцепочечным биспецифичным/мультиспецифичным конструкциям CAR, эти биспецифичные и мультиспецифичные конструкции SIR страдали плохой экспрессией, сниженным связыванием с одним или несколькими антигенами-мишенями, сниженной передачей сигналов и сниженной эффекторной функцией. В раскрытии предлагается решение давней проблемы создания биспецифичных и мультиспецифичных конструкций путем предоставления новых композиций связывающих доменов, оптимальных линкеров между различными доменами и новых конфигураций. В настоящем изобретении предлагаются оптимизированные односпецифичные, биспецифичные и мультиспецифичные SAR, которые обладают превосходной экспрессией, активностью связывания, передачей сигналов, стойкостью, эффекторными функциями (например, активация клеток,

пролиферация, продуцирование цитокинов и цитотоксичность и т.п.), а также свойствами *in vitro* и *in vitro* по сравнению с конструкциями, описанные в данной области техники.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный или мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) аффинности для каждого из антигенов-мишеней по сравнению с аффинностью каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и по сравнению в аналогичных условиях. Аффинность связывания можно измерить с применением анализов, известных в данной области, таких как анализ Torpanga.

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, биспецифичный SAR раскрытия проявляет по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) сигнальной активности против каждой клетки, экспрессирующей антиген-мишень, по сравнению с сигнальной активностью каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Сигнальную активность можно измерить с применением способов, известных в данной области, таких как клеточный анализ Jurkat-NFAT-GFP.

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, биспецифичный SAR раскрытия демонстрирует по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) продуцирования цитокина (например, TNF α , IFN γ , IL-2 и т.п.) против каждой клетки, экспрессирующей антиген-мишень, по сравнению с продуцированием цитокинов каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Продуцирование цитокинов (например, TNF α , IFN γ , IL-2 и т.п.) может быть измерено с применением способов, известных в данной области, таких как ELISA.

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, биспецифичный SAR раскрытия показывает по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) цитотоксической активности против каждой клетки, экспрессирующей антиген-мишень, по сравнению с цитотоксической активностью каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Цитотоксическую активность можно измерить с применением способов, известных в данной области, таких как Matador или анализ высвобождения радиоактивного хрома.

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, биспецифичный SAR раскрытия показывает по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) активности *in vivo* в отношении каждой клетки, экспрессирующей

антиген-мишень, по сравнению с активностью *in vivo* каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. В одном воплощении активность *in vivo* измеряют с применением модели ксенотрансплантата у иммунодефицитных мышей.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) аффинности к одному или нескольким антигенам-мишеней по сравнению с аффинностью каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. В воплощении, описанном в настоящей заявке, мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует по меньшей мере на 10% большую аффинность (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, на 150% или 200% выше аффинность и т.п.) для одного или нескольких антигенов-мишеней по сравнению с аффинностью соответствующей конструкции, содержащей два или более антигенсвязывающих домена на основе scFv, при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. В одном воплощении мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует более высокую аффинность связывания в отношении более чем одного антигена по сравнению с неспецифическим SAR. Аффинность связывания можно измерить с применением анализов, известных в данной области, таких как анализ Topanga. Например, Т-клетки, экспрессирующие SAR CD8SP-CD22-FHVN-24-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHN-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC (SEQ ID NO: 4163) или CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD16-V158-v2-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC (SEQ ID NO: 4723) проявляют по меньшей мере 30% аффинности связывания с CD19, поскольку Т-клетки экспрессируют моноспецифичный SAR CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC (SEQ ID NO: 7346), измеренный с помощью анализа Topanga с применением реагента CD19-ECD-GGS-NLuc (SEQ ID NO: 11971). Кроме того, Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный SAR CD19xCD22xCD20 с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют большее связывание с CD22 и CD20 по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими моноспецифичный SAR CD19 с SEQ ID NO: 7346. В другом примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют большее связывание с CD22 и CD20 по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими биспецифическую CD22xCD20 конструкцию CD8SP-CD22-FHVN-24-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHN-2HCD25-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC (SEQ ID NO: 21626), в

котором домен связывания CD22-FHvH-24 непосредственно присоединен к цепи TCR α (hTCR α -CSDVP) без промежуточного участка vL или линкера Ig, а связывающий домен CD20-vHh-2HCD25 непосредственно присоединен к цепи TCR β (hTCR β -KACIAH) без промежуточного линкера vH или Ig.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует по меньшей мере на 10% большую аффинность (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150% или 200% большую аффинность и т.п.) к одному или нескольким антигенам-мишеням по сравнению с аффинностью соответствующих биспецифичных/мультиспецифичных конструкций, содержащих два или более антигенсвязывающих домена на основе scFv, при экспрессии в эффекторной клетке и сравнивали в одинаковых условиях. Например, Т-клетки, экспрессирующие биспецифичный CD19xCD20 SAR CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCR α -CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-CD20-vHh-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-PAC с SEQ ID NO: 4088 проявляют по меньшей мере на 10% большую аффинность связывания с CD19 и/или CD20 по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими конструкцию CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-scFv-[hTCR α -CSDVP]-F-F2A-IgSP-CD20-7D8-scFv-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-PAC (SEQ ID NO: 21627).

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, мультиспецифичный SAR раскрытия показывает по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) сигнальную активность против одной или нескольких клеток, экспрессирующих антиген-мишень, по сравнению с сигнальной активностью каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и при сравнении в сходных условиях. В одном воплощении мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует более высокую сигнальную активность в отношении более чем одной антигенэкспрессирующей клетки по сравнению с моноспецифичным SAR. Сигнальную активность можно измерить с применением способов, известных в данной области, таких как клеточный анализ Jurkat-NFAT-GFP (JNG). В примерном воплощении клетки JNG, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 4163 или SEQ ID NO: 4723, демонстрируют по меньшей мере 30% индукции GFP, наблюдаемой с клетками JNG, экспрессирующими SAR с SEQ ID NO: 7346, при культивировании в аналогичных условиях с клетками RAJI, экспрессирующими антиген CD19. В другом воплощении клетки JNG, экспрессирующие мультиспецифичный SAR CD19xCD22xCD20 с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют более высокую индукцию GFP при совместном культивировании с клетками RAJI CD19-null (например, CD19-KO), но CD22⁺ и CD20⁺, по сравнению с клетками JNG, экспрессирующими моноспецифичный CD19 SAR с SEQ

ID NO: 7346. В другом примерном воплощении клетки JNG, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют большее связывание с CD22 и CD20 по сравнению с клетками JNG, экспрессирующими биспецифическую конструкцию CD22xCD20.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR раскрытия проявляет по меньшей мере на 10% более высокую сигнальную активность (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150% или 200% большую аффинность и т.п.) против клеток, экспрессирующих один или несколько антигенов-мишеней, по сравнению с сигнальной активностью соответствующих биспецифичных/мультиспецифичных конструкций, содержащих два или более антигенсвязывающих домена на основе scFv при экспрессии в эффекторной клетке при сравнении в аналогичных условиях. Например, клетки JNG, экспрессирующие биспецифичный CD19xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4088, демонстрируют по меньшей мере на 10% большую индукцию GFP при совместном культивировании в течение 24 часов с RAJI (CD19+/CD20+) и/или RAJI-CD19-KO (CD19-/CD20+) по сравнению с клетками JNG, экспрессирующими конструкцию CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-scFv-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-CD20-7D8-scFv-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A -PAC (SEQ ID NO: 21627).

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, мультиспецифичный SAR раскрытия показывает по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) цитотоксической активности в отношении каждой клетки, экспрессирующей антиген-мишень, по сравнению с цитотоксической активностью каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Цитотоксическую активность можно измерить с применением способов, известных в данной области, таких как Matador или анализ высвобождения радиоактивного хрома. Например, Т-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 4163 или SEQ ID NO: 4723, демонстрируют по меньшей мере 30% цитотоксичности по отношению к клеткам RAJI, как это наблюдается в случае Т-клеток, экспрессирующих SAR с SEQ ID NO: 7346, при анализе в аналогичных условиях. В другом воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, проявляют более высокую цитотоксичность при совместном культивировании с клетками RAJI CD19-null (например, CD19-KO), но CD22+ и CD20+, по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими моноспецифичный CD19 SAR с SEQ ID NO: 7346. В другом примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, проявляют более высокую цитотоксичность в отношении CD19-/CD22+/CD20+ по сравнению с Т-клетками,

экспрессирующими биспецифическую конструкцию CD22xCD20 с SEQ ID NO: 21626.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR раскрытия проявляет цитотоксичность по меньшей мере на 10% выше (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150% или 200% большую аффинность и т.п.) против клеток, экспрессирующих один или несколько антигенов-мишеней, по сравнению с цитотоксичностью соответствующих биспецифичных/мультиспецифичных конструкций, содержащих два или более антигенсвязывающих домена на основе scFv, при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Например, Т-клетки, экспрессирующие биспецифичный CD19xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4088, проявляют по меньшей мере на 10% большую цитотоксичность при совместном культивировании в течение 24 часов с RAJI (CD19+/CD20+) и/или RAJI-CD19-KO (CD19-/CD20+) по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими конструкцию CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-scFv-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-CD20-7D8-scFv-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR раскрытия, содержащий домен связывания адаптера, присоединенный к N-концу или вблизи N-конца фрагмента vL/vH, проявляет цитотоксичность по меньшей мере на 10% выше (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150% или 200% большую аффинность и т.п.) против клеток, экспрессирующих один или несколько антигенов-мишеней, по сравнению с цитотоксичностью соответствующих биспецифичных/мультиспецифичных конструкций, содержащих один scFv и один домен связывания адаптера, которые индивидуально присоединены к отдельным константным цепям TCR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Например, Т-клетки, экспрессирующие SAR CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-Apa-RZip-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC с SEQ ID NO: 4342, проявляют по меньшей мере на 10% большую цитотоксичность при совместном культивировании в течение 24 часов с клетками SKOV3 (Her2+/CD19-) в присутствии EZip-меченого герцептина или Her2-huMab4D5-D98W-scFv-G4S-EZIP (SEQ ID NO: 12182) по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими конструкцию CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-scFv-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgSP-RZIP-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC (SEQ ID NO: 21628).

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, мультиспецифичный SAR раскрытия показывает по меньшей мере 30% (например, более 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99%, 100% и т.п.) продуцирования цитокинов (например, TNF α , IFN γ , IL-2 и т.п.) против каждой клетки, экспрессирующей антиген-мишень, по сравнению с

продуцированием цитокинов каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. Продуцирование цитокинов (например, TNF α , IFN γ , IL-2 и т.п.) может быть измерено с применением способов, известных в данной области, таких как ELISA. Например, Т-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 4163 или SEQ ID NO: 4723, демонстрируют по меньшей мере 30% продуцирования TNF α , IFN γ и/или IL2, наблюдаемого у Т-клеток, экспрессирующих SAR с SEQ ID NO: 7346, при совместном культивировании с клетками RAJI в аналогичных условиях. В другом примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют более высокое продуцирование TNF α , IFN γ и IL2 при совместном культивировании с клетками RAJI CD19-null (например, CD19-KO), но CD22+ и CD20+, по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими моноспецифичный CD19 SAR с SEQ ID NO: 7346. В другом примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют большее продуцирование TNF α , IFN γ и IL2 при совместном культивировании с CD19-/CD22+/CD20+ по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими биспецифическую конструкцию CD22xCD20 с SEQ ID NO: 21626.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR раскрытия демонстрирует по меньшей мере на 10% большее продуцирование цитокинов (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150% или 200% большую аффинность и т.п.) против одного или нескольких целевых антигенов, экспрессирующих клетки, по сравнению с продуцированием цитокинов соответствующих биспецифичных/мультиспецифичных конструкций, содержащих два или более антигенсвязывающих домена на основе scFv при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях.

В других воплощениях, описанных в настоящей заявке, мультиспецифичный SAR раскрытия показывает по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) активности *in vivo* в отношении каждой клетки, экспрессирующей антиген-мишень, по сравнению с активностью *in vivo* каждого из соответствующих моноспецифичных SAR при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях. В одном воплощении активность *in vivo* измеряют с применением модели ксенотрансплантата у иммунодефицитных мышей. Например, Т-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 4163 или SEQ ID NO: 4723, демонстрируют по меньшей мере 30% уменьшения опухоли, наблюдаемого с Т-клетками, экспрессирующими SAR с SEQ ID NO: 7346, при анализе с применением модели ксенотрансплантата RAJI в иммунодефицитных

мышях NSG. В другом примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, демонстрируют более высокую активность *in vivo* в отношении клеток RAJI CD19-null (например, CD19-KO), но CD22+ и CD20+, по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими моноспецифичный CD19 SAR с SEQ ID NO: 7346. В другом примерном воплощении Т-клетки, экспрессирующие мультиспецифичный CD19xCD22xCD20 SAR с SEQ ID NO: 4163, проявляют более высокую активность *in vivo* в отношении клеток CD19-/CD22+/CD20+ RAJI по сравнению с Т-клетками, экспрессирующими биспецифическую конструкцию CD22xCD20 с SEQ ID NO: 21626.

В воплощении, описанном в настоящей заявке, биспецифичный и/или мультиспецифичный SAR раскрытия проявляет противоопухолевую активность *in vivo* по меньшей мере на 10% выше (например, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150% или 200% большую аффинность и т.п.) против клеток, экспрессирующих один или несколько антигенов-мишеней, по сравнению с противоопухолевой активностью *in vivo* соответствующих биспецифичных/мультиспецифичных конструкций, содержащих два или большее количество антигенсвязывающих доменов на основе scFv при экспрессии в эффекторной клетке и сравнении в аналогичных условиях.

В некоторых воплощениях при экспрессии на поверхности клетки связывание антигенсвязывающего домена, состоящего из Fv (т.е. фрагментов vL/vH) биспецифичного SAR, с его когнатным антигеном существенно не снижается одним или несколькими AABD, которые функционально связаны с N-концевой областью фрагмента vL и/или vH указанного SAR. В некоторых воплощениях при экспрессии на поверхности клетки связывание антигенсвязывающего домена, состоящего из Fv (т.е. фрагментов vL/vH) биспецифичного/мультиспецифичного SAR, содержащего один или несколько AABD, которые функционально связаны с N-концевой областью фрагмента vL и/или vH указанного SAR относительно его когнатного антигена составляет по меньшей мере 30% (например, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%, 99% и т.п.) аффинности связывания соответствующего моноспецифичного SAR, лишённого AABD. В одном воплощении SAR представляет собой одноцепочечный SAR (например, CAR 2-го поколения или одноцепочечный TFP или TAC). В одном воплощении SAR представляет собой двухцепочечный SAR (например, двухцепочечный SIR, двухцепочечный cTCR, двухцепочечный Ab-TCR, двухцепочечный TFP, двухцепочечный zSIR и т.п.). В примерном воплощении AABD представляет собой SVH, SVL, FHVH, vHH, неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий домен, адапторсвязывающий домен, эпитопную метку, мимеотоп, аутоантиген, лигандсвязывающий домен рецептора или

рецепторсвязывающий домен лиганда, Fc-связывающий рецептор и т.п.

В некоторых воплощениях при наличии на поверхности клетки антигенсвязывающая аффинность антигенсвязывающего домена, состоящего из Fv (т.е. фрагментов vL/vH) биспецифичного SAR, содержащего один или несколько AABD, которые функционально связаны с N-концевой областью фрагмента vL и/или vH указанного SAR, составляет по меньшей мере 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% антигенсвязывающей аффинности антигенсвязывающего домена соответствующего моноспецифичного SAR, в котором один или несколько AABD функционально не связаны с N-концевой областью фрагмента vL и/или vH.

В некоторых воплощениях связывание антигенсвязывающего домена указанной первой цепи SAR с его когнатным антигеном в присутствии указанной второй цепи SAR (или CAR) составляет 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% связывания антигенсвязывающего домена указанной первой цепи SAR с его когнатным антигеном в отсутствие указанной второй цепи SAR (или CAR) с его когнатным антигеном. Например, если клетка экспрессирует двухцепочечный SAR, в котором первая цепь состоит из scFV, нацеленного на CD19, присоединенного к TCR α , а вторая цепь состоит из фрагмента vH верблюда, нацеленного на CD123, присоединенного к TCR β 2, то связывание антигенсвязывающего домена указанной первой цепи SAR с его когнатным антигеном (т.е. CD19) в присутствии указанной второй цепи SAR составляет 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от связывания антигенсвязывающего домена указанной первой цепи SAR с его когнатным антигеном (т.е. CD19) в отсутствие указанной второй цепи SAR с его когнатным антигеном (т.е. CD123). В другом примере, если клетка экспрессирует двухцепочечный SAR, в котором первая цепь состоит из фрагмента vL антитела FMC63, нацеленного на CD19, функционально связанного с TCR α , а вторая цепь состоит из фрагмента vH антитела FMC63, нацеленного на CD19, функционально связанного с TCR β 2, вместе с CAR, содержащим фрагмент vH, нацеленным на CD123, то тогда связывание антигенсвязывающего домена указанных первой и второй цепей двухцепочечного SAR с их когнатным антигеном (т.е. CD19) в присутствии указанного CAR составляет 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от связывания антигенсвязывающего домена указанных первой и второй цепей двухцепочечного SAR с его когнатным антигеном (т.е. CD19) в отсутствие указанного CAR с его когнатным антигеном (т.е. CD123).

В некоторых воплощениях, в случае присутствия на поверхности клетки, антигенсвязывающие домены указанной первой цепи и второй цепи двухцепочечного SAR связываются друг с другом в меньшей степени, чем если бы оба были

антигенсвязывающими доменами scFv. В некоторых воплощениях антигенсвязывающие домены указанной первой цепи и указанной второй цепи двухцепочечного SAR ассоциированы друг с другом на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 99% меньше, чем если бы оба были антигенсвязывающими доменами scFv.

В некоторых воплощениях антигенспецифичные домены SAR содержат один или несколько фрагментов vL. В примерных воплощениях один или несколько фрагментов vL описаны в таблице 3. В некоторых воплощениях полинуклеотиды, кодирующие еще один фрагмент vL, содержат, состоят или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 46-282. В некоторых воплощениях полипептиды, кодирующие еще один фрагмент vL, содержат, состоят или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972, или последовательностей с 70-99% идентичностью последовательностям, представленным в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10736-10972 или последовательностей с 70-99% идентичностью в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), с последовательностями, представленными в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10736-10972, или последовательностями с менее чем 3 заменами в трех CDR последовательностей, указанных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972, или последовательностей, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой или более SEQ ID NO: 10736-10972. В некоторых воплощениях антигенспецифичные домены SAR содержат один или несколько фрагментов vH. В примерных воплощениях один или несколько фрагментов vH описаны в таблице 3. В некоторых воплощениях полинуклеотиды, кодирующие еще один фрагмент vH, содержат, состоят или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 288-524. В некоторых воплощениях полипептиды, кодирующие еще один фрагмент vH, содержат, состоят из или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких последовательностях SEQ ID NO: 10978-11214, или последовательностей с 70-99% идентичностью последовательностям, представленным в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10978-11214 или последовательностей с 70-99% идентичностью в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), последовательностям, представленным в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10978-11214, или последовательностей с менее чем 3 заменами в трех CDR последовательностей, указанных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10978-11214, или последовательностей, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на

антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой или более SEQ ID NO: 10978-11214.

В примерных воплощениях один или несколько фрагментов AABD (например, V_HH (или v_HH) или SV_H) описаны в таблице 4. В некоторых воплощениях полинуклеотиды, кодирующие еще один AABD (например, V_HH (или v_HH) или SV_H), содержат, состоят или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 830-902. В некоторых воплощениях полипептиды, кодирующие еще один AABD (например, V_HH (или v_HH) или SV_H), содержат, состоят или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592, или последовательностей с 70-99% идентичностью последовательностям, указанным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592, или последовательностей с 70-99% идентичностью в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), последовательностям, указанным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592 или последовательностей с менее чем 3 заменами в трех CDR последовательностей, указанных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592, или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR набора последовательностей далее в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592 или последовательностей, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592.

В примерных воплощениях один или более AABD представляют собой неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, как описано в Таблице 7. В некоторых воплощениях полинуклеотиды, кодирующие еще один неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, содержат, состоят из или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 972-983. В некоторых воплощениях полипептиды, кодирующие еще один неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов, содержат, состоят или по существу состоят из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11662-11673, или последовательностей с 70-99% идентичностью последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11662-11673, или последовательностей, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11662-11673.

В примерных воплощениях один или несколько AABD представляют собой

лиганд-связывающие домены рецепторов. Примеры таких лиганд-связывающих доменов рецепторов описаны в таблице 8. В примерных воплощениях один или несколько AABD представляют собой лиганд-связывающие домены рецепторов с SEQ ID NO: 11674-11691 или последовательности с 70-99% идентичностью с последовательностями, указанными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11674-11691.

В одном воплощении домен VH выбран из SEQ ID NO. 11517-11592, имеющих одну или несколько аминокислотных замен, делеций, вставок или других модификаций по сравнению с SEQ ID NO. 11517-11592, который сохраняет биологическую функцию однодоменного антитела.

В одном воплощении модификация представляет собой консервативную модификацию последовательности. Таким образом, один или несколько аминокислотных остатков в областях CDR однодоменного антитела по настоящему изобретению могут быть заменены другими аминокислотными остатками из того же семейства боковых цепей, и измененное антитело может быть проверено на сохранение функции (т.е. функций, изложенных в (с)-(I) выше) с применением описанных в данном документе функциональных анализов.

В другом воплощении домен vH (или VH) выбран из одной из SEQ ID NO. 11517-11592, но содержит одну или несколько аминокислотных замен, например от 1 до 20, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных замен. В одном воплощении одна или несколько аминокислотных замен находятся в одной или нескольких каркасных областях. В другом воплощении одна или несколько замен аминокислот находятся в одной или нескольких CDR. В одном воплощении аминокислотные замены находятся в каркасной области и последовательностях CDR.

В одном воплощении однодоменное антитело VH представляет собой вариант однодоменного антитела, выбранный из тех, которые имеют SEQ ID NO. 11517-11592, который включает одну или несколько модификаций последовательности и имеет улучшения в одном или нескольких свойствах, таких как аффинность связывания, специфичность, термостабильность, уровень экспрессии, эффекторная функция, гликозилирование, сниженная иммуногенность или растворимость по сравнению с немодифицированным однодоменным антителом.

Квалифицированному специалисту известно, что существуют различные способы идентификации, получения и оптимизации антигенсвязывающих молекул, как описано в настоящей заявке, включая экспрессирующие библиотеки *in vitro* и *in vivo*. Это дополнительно описано в примерах. Можно использовать методы оптимизации, известные в данной области, такие как дисплей (например, рибосомный и/или фаговый

дисплей) и/или мутагенез (например, подверженный ошибкам мутагенез). Таким образом, раскрытие также включает оптимизированные по последовательности варианты описанных в данном документе однодоменных антител.

Раскрытие также относится к применению нескольких доменов VH человека в SAR-конструкции. В одном воплощении более одного, например, два или три домена VH выбраны из доменов VH с SEQ ID NO, показанных в таблице 5, или аминокислотных последовательностей, гомологичных им по меньшей мере на 70%, 80% или 90% (с соответствующими нуклеотидными SEQ ID No, показанными в таблице 5).

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на любой один или несколько антигенов, перечисленных в таблице В. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом одного или нескольких антигенов, перечисленных в Таблице В, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом этого антигена. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на ВСМА. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом ВСМА, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scFv, который связывается со вторым эпитопом ВСМА. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на CD19. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом CD19, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом CD19. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на MSLN. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом MSLN, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом MSLN. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на CD20. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом CD19, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом CD19. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на BCMA. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом BCMA, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом BCMA. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на CD22. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом CD22, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом CD22. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на PSMA. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом PSMA, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом PSMA. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на CD123. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом CD123, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом CD123. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на Her2. Таким образом, связывающий домен содержит первый AABD (например, однодоменное антитело VH), который связывается с первым эпитопом Her2, и AABD (например, однодоменное антитело VH), Fv или scF, который связывается со вторым эпитопом Her2. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на CD123. Таким образом, связывающий домен содержит первое однодоменное антитело vH, которое связывается с первым эпитопом CD123, и второе однодоменное антитело vH, которое связывается со вторым эпитопом CD123. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает бипаратопное нацеливание на Muc16. Таким образом, связывающий домен содержит первое однодоменное антитело vH, которое связывается с первым эпитопом Muc16, и второе однодоменное антитело vH, которое связывается со вторым эпитопом Muc16. Первый и второй эпитоп могут перекрываться.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает биспецифическое нацеливание. Таким образом, связывающий домен содержит однодоменное антитело vH или домен vHH, который связывает BCMA, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на вторую мишень. Однодоменное антитело vH, которое связывает BCMA, например, выбрано из SEQ ID NO. 11543-11548, 11579-11580, 11585-11586 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. Второй связывающий фрагмент может представлять собой фрагмент антитела, обычно однодоменное антитело VH, центирин, аффибоди или домен vHH. Вторая мишень может быть выбрана из CD19, CD20, CD22, BCMA, PSCA, CS1, GPC3, CSPG4, EGFR, 5T4, L1 CAM, MUC16, ROR1, cKit, ROR1, мезотелина, IL3Ra, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1 TCR или MAGE A3 TCR, HER2, гена 1 опухоли Вильмса (WT1), карциноэмбрионального антигена (CEA), муцина 16, MUC1, мишени иммунологической контрольной точки или их комбинации. Однако специалисту в данной области техники будет понятно, что другие опухолевые антигены также являются потенциальными комбинированными мишенями в рамках объема изобретения. В случае одноцепочечного SAR два связывающих домена могут присутствовать в любом порядке. Например, в случае биспецифичного одноцепочечного SAR, нацеленного на BCMA и CD38, порядок доменов vH может быть следующим: BCMA-vH-линкер-CD38-vH или CD38-vH-линкер-BCMA-vH. Аналогично, в случае двухцепочечного SAR два связывающих домена могут быть функционально связаны с любой из двух константных цепей. Например, в случае двухцепочечного SAR, нацеленного на BCMA и CD38, конфигурация может быть следующей: BCMA-vH-TCR α -2A-CD38-vH-TCR β или CD38-vH-TCR α -2A-BCMA-TCR β , или BCMA-vH-TCR β -2A-CD38-vH-TCR α или CD38-vH-TCR β -2A-BCMA-TCR α , где 2A представляет собой расщепляемый линкер, такой как P2A, T2A, F2A и т.п. В другом воплощении, в случае двухцепочечного SAR, нацеленного на BCMA и CD38, конфигурация может быть следующей: BCMA-vH-TCR γ -2A-CD38-vH-TCR δ или CD38-vH-TCR γ -2A-BCMA-TCR δ или BCMA-vH-TCR δ -2A-CD38-vH-TCR γ или CD38-vH-TCR δ -2A-BCMA-TCR γ , где 2A представляет собой расщепляемый линкер, такой как P2A, T2A, F2A и т.п.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD (например, однодоменное антитело VH или SVH, vHH или центирин и т.п.), которое связывает BCMA, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD38. AABD (например, SVH или vHH или центирин и т.п.), который связывает BCMA, например, выбран из SEQ ID NO. 11543-11548, 11579-11580, 11585-11586, 11673, 23167 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80%, 90%, 98% гомологии с ними.

AABD (например, SVH, VH или центирин), который связывает CD38, например, выбран из SEQ ID NO. 11535-11539, 11582, 11586, 23168 и 23169 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80%, 90%, 98% гомологии с ними.

В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH, которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. Дополнительные примерные фрагменты vL/vH, их LC-CDR1-3, HC-CDR1-3 и их антигены-мишени представлены в Таблице 39. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd, которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD (например, однодоменное антитело VH или SVH, vHH или центирин и т.п.), которое связывает ВСМА, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD38. AABD (например, однодоменное антитело VH или SVH, vHH или центирин и т.п.), которое связывает ВСМА, например, выбрано из SEQ ID NO. 11543-11548, 11579-11580, 11585-11586, 11673 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD19, например, выбран из SEQ ID NO. 11524, 11526-11529, 11588 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH, которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd, которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD (например, однодоменное антитело VH или SVH, vHH или центирин и т.п.), которое связывает ВСМА, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD22. AABD, который связывает ВСМА, например, выбран из SEQ ID NO. 11543-11548, 11579-11580, 11585-11586, 11673 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD22, например, выбран из SEQ ID NO. 11532-11534 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH, которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген.

Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd , которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD (например, однодоменное антитело VH или SVH, vHH или центрин и т.п.), которое связывает BCMA, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD20. Однодоменное антитело VH, которое связывает BCMA, например, выбрано из SEQ ID NO. 11543-11548, 11579-11580, 11585-11586, 11673 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD2, например, выбран из SEQ ID NO. 11530-31, 11589 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd , которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD22, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD20. AABD, который связывает CD22, например, выбран из SEQ ID NO. 11532-11534 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD20, например, выбран из SEQ ID NO. 11530-31, 11589 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd , которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD22, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD19. AABD, который связывает CD22, например, выбран из SEQ ID NO. 11532-11534 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD19, например, выбран из SEQ ID NO. 11524, 11526-11529,

11588 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые объединяются с образованием Fv , нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd , которые комбинируются с образованием TCR- Fv , нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD19, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD20. AABD, который связывает CD19, например, выбран из SEQ ID NO. 11524, 11526-11529, 11588 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. Однодоменное антитело VH , которое связывает CD20, например, выбрано из SEQ ID NO. 11530-31, 11589 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые объединяются с образованием Fv , нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd , которые комбинируются с образованием TCR- Fv , нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD19, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD38. Однодоменное антитело VH , которое связывает CD19, например, выбрано из SEQ ID NO. 11524, 11526-11529, 11588 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD38, например, выбран из SEQ ID NO. 11535-11539, 11582 и 11586 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80%, 90%, 98% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые объединяются с образованием Fv , нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd , которые комбинируются с образованием TCR- Fv , нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD19, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD123. AABD, который связывает CD19, например, выбран из SEQ ID NO. 11524, 11526-11529, 11588

или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. AABD, который связывает CD123, например, выбран из SEQ ID NO. 11569-70 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые комбинируются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd, которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD19, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на BAFF-R. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH , которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd, которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении по меньшей мере один связывающий домен SAR содержит AABD, который связывается с шиповидным гликопротеином вируса. В воплощении вирус представляет собой коронавирус. В одном воплощении по меньшей мере один связывающий домен SAR содержит AABD, который связывается с шиповидным гликопротеином COVID-19. В одном воплощении по меньшей мере один связывающий домен SAR содержит AABD, который связывается с шиповидным гликопротеином SARS. В одном воплощении по меньшей мере один связывающий домен SAR содержит AABD, который связывается с шиповидным гликопротеином MERS. AABD, который связывает шиповидный гликопротеин COVID-19, представляет собой, например, внеклеточный домен ACE2 (ангиотензинпревращающий фермент 2; Genbank: AY623811) или его фрагмент. AABD, который связывает шиповидный гликопротеин COVID-19, представляет собой, например, SVH, VHH, центрин, аффибоди, vL , vH , Fv, scFv или их фрагмент. AABD, который связывает шиповидный гликопротеин SARS, представляет собой, например, внеклеточный домен рецептора ACE2 или его фрагмент. AABD, который связывает шиповидный гликопротеин SARS, представляет собой, например, SVH, VHH, центрин, аффибоди, vL , vH , Fv, scFv или их фрагмент.

В одном воплощении первый связывающий домен SAR содержит AABD, который связывает CD19, и второй связывающий фрагмент, нацеленный на CD79b. Однодоменное

антитело VH, которое связывает CD19, например, выбрано из SEQ ID NO. 11524, 11526-11529, 11588 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты vL/vH, которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на специфичный антиген. Примеры фрагментов vL/vH и их целевых антигенов представлены в таблице 3. В одном воплощении SAR дополнительно содержит фрагменты Va/Vb или Vg/Vd, которые комбинируются с образованием TCR-Fv, нацеленного на разные антигены. Примерные фрагменты Va/Vb или Vg/Vd и их антигены-мишени представлены в таблице 4.

В одном воплощении связывающий домен SAR раскрытия обеспечивает биспецифическое нацеливание. Таким образом, связывающий домен содержит AABD, который связывает PSMA, и второй связывающий фрагмент, который нацелен на вторую мишень. Антитело AABD, которое связывает PSMA, например, выбрано из SEQ ID NO. 11532-11534 или из последовательности по меньшей мере с 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними. Второй связывающий фрагмент может представлять собой фрагмент антитела, обычно антитело с одним доменом VH. Вторая мишень может быть выбрана из CD19, CD20, CD22, BCMA, PSMA, CS1, GPC3, CSPG4, EGFR, 5T4, L1 CAM, MUC16, ROR1, cKit, мезотелина, IL3Ra, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1 TCR или MAGE A3 TCR, HER2, гена 1 опухоли Вильмса (WT1), карциноэмбрионального антигена (CEA), муцина 16, MUC1, мишени иммунологической контрольной точки или их комбинации. Однако специалисту в данной области техники будет понятно, что другие опухолевые антигены также являются потенциальными комбинированными мишенями в рамках объема изобретения.

В одном аспекте новый антигенсвязывающий домен SAR связывается с антигеном, преимущественно или исключительно экспрессируемым на клетках гемопоэтической линии. Типичными антигенами, которые преимущественно или исключительно экспрессируются на клетках кроветворной линии, являются CD19, CD20, CD22, BCMA, CS1, CD33, MPL, CD138, CD38 и CD123. В одном аспекте новый антигенсвязывающий домен SAR связывается с антигеном, предпочтительно или исключительно экспрессируемым на клетках некроветворной линии. Примерами антигенов, которые преимущественно или исключительно экспрессируются на клетках некроветворной линии, являются мезотелин (MSLN), Her2, EGFR, PSMA, IL13Ra2 и т.п. В одном аспекте SAR экспрессирует два или более новых антигенсвязывающих домена, где по меньшей мере один из новых антигенсвязывающих доменов связывается с антигеном, преимущественно или исключительно экспрессируемым на клетках кроветворной линии, и по меньшей мере один из новых антигенных доменов связывается с антигеном,

экспрессируемым на клетках некроветворной линии.

В предпочтительном воплощении однодоменное vH-антитело для применения в SAR, как описано в настоящей заявке, получают из человеческого антитела, содержащего только тяжелые цепи, продуцированного у трансгенных грызунов, которые экспрессируют локусы тяжелых цепей человека.

Мышь, имеющая функционально молчащие эндогенные локусы лямбда- и каппа-цепей, может быть, например, получена, как описано в WO 2003/000737, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой.

Альтернативные способы, известные в данной области техники, могут быть использованы для делеции или инактивации эндогенных генов мышиноного или крысиного иммуноглобулина и введения человеческих генов VH, D и J в комбинации с генами константной области мышиноного иммуноглобулина, в которых отсутствуют домены CH1, мышинный энхансер и регуляторные области.

Описанный выше трансгенный грызун продуцирует переменные области тяжелых цепей человека, которые можно выделить и использовать для создания доменов VH человека для применения в SAR по изобретению, например, как описано в WO 2016/062990 или WO 2016/113557.

Таким образом, раскрытие также относится к SAR, содержащему антитело с одним доменом VH, полученное из переменных областей тяжелых цепей человека, полученных у мыши ТКО, которая экспрессирует локусы тяжелой цепи человека.

В одном воплощении однодоменное vL-антитело для применения в SAR, как описано в настоящей заявке, получают из человеческого антитела, содержащего только тяжелые цепи, продуцированного у трансгенных грызунов, которые экспрессируют локусы легкой цепи человека.

В дополнение к домену связывания, как подробно описано выше, SAR раскрытия может дополнительно содержать одну или несколько константных цепей или фрагментов TCR и их вариантов. Примеры константных цепей TCR представлены в таблице 12. Компоненты константных цепей TCR, включая Ig-подобные C1-домены TCR (SEQ ID NO: 11848-11865), связывающие TCR пептиды (SEQ ID NO: 11867-11875), трансмембранные домены (SEQ ID NO: 11877-11881), и цитозольные домены TCR (SEQ ID NO: 11883-11886) представлены в таблицах 13-16. Константные цепи и фрагменты TCR для конструирования SAR, например, выбраны из SEQ ID NO. 11848-11865, 11867-11875, 11877-11881, 11883-11886 или из последовательности, содержащей по меньшей мере 60%, 70%, 80% или 90% гомологии с ними или их функциональных вариантов.

Вектор, кодирующий SAR, обычно имеет ограниченную способность кодировать

SAR. Например, размер полинуклеотида SAR влияет на титр лентивирусного или ретровирусного вектора. Таким образом, желателен SAR небольшого размера. В одном аспекте настоящее изобретение описывает моноспецифичный двухцепочечный SAR, включающий два сигнальных пептида и промежуточный линкер 2A, который имеет длину менее 1765 нуклеотидов, менее 1770 нуклеотидов, менее 1780 нуклеотидов, менее 1790 нуклеотидов, менее 1800 нуклеотидов, менее 1820 нуклеотидов. В одном аспекте настоящее изобретение описывает моноспецифичный двухцепочечный SAR, в котором длина одной цепи без сигнальной последовательности не превышает 815 нуклеотидов, 820 нуклеотидов, 825 нуклеотидов или 850 нуклеотидов, а длина второй цепи без сигнальной последовательности не превышает 790 нуклеотидов, 800 нуклеотидов, 810 нуклеотидов, 815 нуклеотидов, 820 нуклеотидов, 825 нуклеотидов или 850 нуклеотидов. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, εTFP, γTFP, δTFP, αβTFP, γδTFP или TCR. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, αβTFP, γδTFP или TCR с константными цепями TCRα и TCRβ. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, αβTFP, γδTFP или TCR с константными цепями TCRγ и TCRδ.

В раскрытии также предлагаются новые делеционные мутанты константных цепей TCRα (SEQ ID NO: 11793-11803), TCRβ (SEQ ID NO: 11805-11817), TCRγ (SEQ ID NO: 11819-11823) и TCRδ (SEQ ID NO: 11825-11830) (Таблица 12), которые можно использовать при построении SIR и SAR на каркасах SIR. Использование делеционных мутантов константных цепей TCRα, TCRβ, TCRγ и TCRδ помогает уменьшить размер конструкций SIR/SAR, улучшить их упаковку в вирусные векторы и тем самым повысить титр вирусных векторов и эффективность трансдукции.

В одном аспекте настоящее изобретение описывает SAR с двойной цепью, где длина фрагмента константной цепи TCRα составляет менее 370, 380, 390, 400, 410 или 421 нуклеотида, а фрагмента константной цепи TCRβ составляет менее 490 нуклеотидов, менее 500 нуклеотидов, менее 510 нуклеотидов, менее 520 нуклеотидов, менее 530 нуклеотидов или менее 540 нуклеотидов в длину. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, αβTFP или TCR. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR. В одном аспекте SAR имеет каркас SIR с константными цепями TCRα и TCRβ или константными цепями TCRγ и TCRδ. В одном аспекте SAR имеет каркас сTCR с константными цепями TCRα и TCRβ или константными цепями TCRγ и TCRδ. В одном аспекте фрагменты константной цепи TCRα и TCRβ несут мутации, которые усиливают их спаривание цепей и уменьшают спаривание цепей с эндогенными цепями TCRαβ. В одном аспекте фрагменты константной цепи TCRα и TCRβ несут мутации, которые

приводят к образованию дополнительной цистеиновой связи (двойной связи) между двумя цепями. Примерами константных цепей TCR α и TCR β , которые можно использовать при конструировании SAR раскрытия, являются hTCRa-T48C-opt-d17 (SEQ ID NO: 11797) и hTCRb-S57C-opt1-d17 (SEQ ID NO: 11810) или варианты цепей TCR α и TCR β , содержащие вышеперечисленное. Примеры вариантов цепей TCR α и TCR β представлены в таблице 12.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR α , включающий hTCRa-T48C-opt-d17 (SEQ ID NO: 11797) или вариант, содержащий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%%, 98%, 99%, 99,9% гомологии с последовательностью, представленной hTCRa-T48C-opt-d17 (SEQ ID NO: 11797). В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR α , содержащий hTCRa-T48C-opt-d17 (SEQ ID NO: 11797) или его делеционный мутант, который сохраняет способность образовывать пары с комплементарной константной цепью TCR β . В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR α , содержащий hTCRa-T48C-opt-d17 (SEQ ID NO: 11797) или его делеционный мутант, который сохраняет способность включаться в комплекс TCR/CD3, рекрутировать сигнальный модуль TCR. и/или индуцировать передачу сигналов Т-клетками при взаимодействии с антигеном-мишенью. Дополнительные константные цепи и делеционные мутанты TCR α , которые можно использовать при конструировании SAR, представлены в таблице 12.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR β , включающий hTCRb-S57C-opt1-d17 (SEQ ID NO: 11810) или вариант, содержащий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%%, 98%, 99%, 99,9% гомологии с аминокислотной последовательностью, представленной hTCRb-S57C-opt1-d17 (SEQ ID NO: 11810). В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR β , содержащий hTCRb-S57C-opt1-d17 (SEQ ID NO: 11810) или его делеционный мутант, который сохраняет способность образовывать пары с комплементарной константной цепью TCR α . В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR β , содержащий hTCRb-S57C-opt1-d17 (SEQ ID NO: 11810) или его делеционный мутант, который сохраняет способность включаться в комплекс TCR/CD3, рекрутировать сигнальный модуль TCR и/или индуцировать передачу сигналов Т-клетками при взаимодействии с антигеном-мишенью. Дополнительные константные цепи и делеционные мутанты TCR α , которые можно использовать при конструировании SAR, представлены в таблице 12.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR γ , включающий hTCRg-Opt-d12 (SEQ ID NO: 11821) или вариант, содержащий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,9% гомологии с последовательностью, представленной hTCRg-Opt-d12 (SEQ ID NO: 11821). В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR γ , содержащий hTCRg-Opt-d12 (SEQ ID NO: 11821) или его делеционный мутант, который сохраняет способность образовывать пары с комплементарной константной цепью TCR δ . В одном из аспектов настоящего изобретения предложены SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCRg, содержащий hTCRg-Opt-d12 (SEQ ID NO: 11821) или его делеционный мутант, который сохраняет способность включаться в комплекс TCR/CD3, рекрутировать сигнальный модуль TCR и/или индуцировать передачу сигналов Т-клетками при взаимодействии с антигеном-мишенью.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR γ , содержащий hTCRg-Opt-d5 (SEQ ID NO (PRT): 11819) или вариант, содержащий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,9% гомология аминокислотной последовательности, представленной hTCRg-Opt-d5 (SEQ ID NO (PRT): 11819). В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR γ , включающий hTCRg-Opt-d5 (SEQ ID NO: 11819) или его делеционный мутант, который сохраняет способность образовывать пары с комплементарной константной цепью TCR δ . В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR γ , содержащий hTCRg-Opt-d5 (SEQ ID NO: 11819) или его делеционный мутант, который сохраняет способность включаться в комплекс TCR/CD3, рекрутировать сигнальный модуль TCR и/или индуцировать передачу сигналов Т-клетками при взаимодействии с антигеном-мишенью. Дополнительные константные цепи и делеционные мутанты TCR γ , которые можно использовать при конструировании SAR, представлены в таблице 12.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR δ , включающий hTCRd-opt-d13 (SEQ ID NO: 11828) или вариант, содержащий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,9% гомологии с последовательностью, представленной hTCRd-opt-d13 (SEQ ID NO: 11828). В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR δ , содержащий hTCRd-opt-d13 (SEQ ID NO: 11828) или его делеционный мутант, который сохраняет способность образовывать пары с комплементарной константной цепью TCR γ . В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR δ , содержащий hTCRd-opt-d13 (SEQ ID NO: 11828) или его

делеционный мутант, который сохраняет способность включаться в комплекс TCR/CD3, рекрутировать сигнальный модуль TCR и/или индуцировать передачу сигналов Т-клетками при взаимодействии с антигеном-мишенью.

В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR δ , включающий hTCRd-opt-d2 (SEQ ID NO: 11825) или вариант, содержащий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,9% гомологии с последовательностью, представленной hTCRd-opt-d5 (SEQ ID NO: 11828). В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR δ , включающий hTCRd-opt-d5 (SEQ ID NO: 11825) или его делеционный мутант, который сохраняет способность образовывать пары с комплементарной константной цепью TCR γ . В одном аспекте в раскрытии предлагаются SAR, содержащие фрагмент константной цепи TCR δ , содержащий hTCRd-opt-d13 (SEQ ID NO: 11825) или его делеционный мутант, который сохраняет способность включаться в комплекс TCR/CD3, рекрутировать сигнальный модуль TCR и/или индуцировать передачу сигналов Т-клетками при взаимодействии с антигеном-мишенью. Дополнительные константные цепи TCR δ и делеционные мутанты, которые можно использовать при конструировании SAR, представлены в таблице 12.

В одном аспекте раскрытие относится к выделенному SAR, содержащему антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, где указанный антигенсвязывающий домен содержит один или более, например, по меньшей мере два, домена варибельной области тяжелой цепи (VH) человека и лишен легких цепей.

В одном воплощении SAR раскрытия содержат один или несколько соединительных пептидов. Примеры соединительных пептидов представлены SEQ ID NO: 11867-11875 (таблица 14). В одном воплощении SAR раскрытия содержат один или несколько цитозольных доменов TCR. Примеры цитозольных доменов TCR представлены SEQ ID NO: 11833-11886 (таблица 16).

В одном воплощении SAR раскрытия коэкспрессируются с одним или несколькими вспомогательными модулями. Примеры вспомогательных модулей включают K13, Synth-K13, MC159, hNEMO-K277A, tBCMA и т.п. (таблица 24).

В одном воплощении SAR раскрытия дополнительно содержит шарнирную или спейсерную область, которая соединяет внеклеточный антигенсвязывающий домен и трансмембранный домен. Эта шарнирная или разделительная область может быть использована для достижения различной длины и гибкости получаемого в результате SAR. Примеры шарнирной или спейсерной области, которые можно использовать в

соответствии с изобретением, включают, без ограничения указанным, фрагменты Fc антител или их фрагменты, или производные, шарнирные области антител или их фрагменты или производные, CH2-области антител, CH3-области антител, искусственные спейсерные последовательности, например, пептидные последовательности или их комбинации. В одном воплощении шарнир представляет собой шарнир IgG4 или шарнир CD8A. В частности, в объем раскрытия входят шарнирные последовательности, показанные в Таблицах 17 и 18.

В дополнение к связывающему домену, как подробно описано выше, SAR раскрытия дополнительно содержит один или два трансмембранных домена. «Трансмембранный домен» (ТМД) в данном контексте относится к области SAR, которая пересекает плазматическую мембрану и связана с эндоплазматическим сигнальным доменом и антигенсвязывающим доменом, в случае последнего, необязательно через шарнир. В одном воплощении трансмембранный домен SAR раскрытия представляет собой трансмембранную область трансмембранного белка (например, трансмембранных белков типа I), искусственную гидрофобную последовательность или их комбинацию. В одном воплощении трансмембранный домен содержит домен CD3-дзета или трансмембранный домен CD28. Другие трансмембранные домены будут очевидны специалистам в данной области и могут быть использованы в связи с альтернативными воплощениями изобретения. В частности, в объем раскрытия входят последовательности ТМД, показанные в таблицах 15 и 18.

SAR раскрытия может дополнительно содержать внутриклеточный «домен активации», который передает сигналы активации Т-клеткам и направляет клетку на выполнение ее специализированной функции. Примеры доменов, которые передают сигнал эффекторной функции и могут быть использованы в соответствии с описанием, включают, без ограничения указанным, ζ -цепь комплекса Т-клеточного рецептора или любой из ее гомологов (например, η -цепь, FCER1G и β -цепи, цепь MB 1 (Iga), цепь B29 (Ig) и т.п.), цепь CD3-дзета человека, полипептиды CD3 (γ , δ и ϵ), тирозинкиназы семейства syk (Syk, ZAP 70 и т.п.), тирозинкиназы семейства src (Lck, Fyn, Lyn и т.п.). Другие активационные домены будут очевидны специалистам в данной области и могут использоваться в связи с альтернативными воплощениями изобретения. В частности, в объем раскрытия входят последовательности внутриклеточного домена активации, показанные в SEQ ID NO: 11896 и 11783.

В одном воплощении SAR раскрытия дополнительно содержит один или несколько костимулирующих доменов для повышения активности клеток SAR после антиген-специфичного взаимодействия. Включение этого домена в SAR раскрытия усиливает

пролиферацию, выживание и/или развитие клеток памяти. В частности, в объем раскрытия входят последовательности костимулирующих доменов с SEQ ID NO: 11898 и 11781-82, как показано в Таблице 18.

В одном воплощении SAR раскрытия дополнительно содержит «линкерный домен» или «линкерный участок», который соединяет разные домены SAR. Этот домен включает олиго- или полипептидную область длиной около 1-500 аминокислот. Подходящие линкеры очевидны специалистам в данной области и могут использоваться в связи с альтернативными воплощениями изобретения. В частности, в объем раскрытия входят последовательности линкерных доменов, показанные в Таблицах 11 и 13. В одном воплощении линкер представляет собой длинный линкер и содержит последовательность длиной от 25 до 500 аминокислот. В частности, длинный линкер используется для соединения AABD с связывающим пептидом TCR, в котором отсутствует линкерный домен vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd или Ig.

В одном воплощении SAR раскрытия дополнительно содержит одну или несколько «лидерных последовательностей» или сигнальных пептидов (SP). В одном воплощении лидерная последовательность представляет собой сигнальный пептид CD8A (SEQ ID NO: 31) или сигнальный пептид IgH (SEQ ID NO: 33). В частности, в объем раскрытия входят лидерные последовательности, показанные в таблице 2. В одном воплощении каждая цепь двухцепочечного SAR или полторацепочечного SAR содержит лидерную последовательность или сигнальный пептид. Сигнальный пептид отщепляется от зрелого полипептида SAR. Таким образом, хотя последовательности полипептидов SAR показаны вместе с их сигнальным пептидом (SP), специалисты в данной области понимают, что сигнальный пептид не будет присутствовать на зрелом полипептиде SAR.

В некоторых аспектах SAR раскрытия включает антигенсвязывающий домен, который передает ингибирующий сигнал.

SAR может дополнительно включать метку, например метку, облегчающую визуализацию, такую как флуоресцентная метка или другую метку. Это может быть использовано, например, в способах визуализации связывания опухоли. Метка может быть конъюгирована с антигенсвязывающим доменом.

В одном воплощении SAR раскрытия коэкспрессируются с одним или несколькими вспомогательными модулями. Примеры вспомогательных модулей включают K13, Synth-K13, MC159, hNEMO-K277A, tBCMA и т.п. (таблица 24).

В некоторых воплощениях внеклеточный домен любого из SAR, раскрытых в настоящей заявке, может содержать один или несколько эпитопов, специфичных (например, специфически распознаваемого) для антигенсвязывающего агента, например,

моноклонального антитела. Эти эпитопы также упоминаются в данном документе как mAb-специфичные эпитопы. Примеры эпитопов, специфичных для mAb, раскрыты в международной патентной публикации № WO 2016/120126, которая полностью включена в настоящую заявку. В раскрытии предлагаются новые композиции и места для включения эпитопов в SAR. В этих воплощениях внеклеточный домен содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые связываются с антигенами-мишенями, и один или несколько эпитопов, которые связываются с одним или несколькими антителами (например, моноклональное антитело, биспецифическое антитело, фрагменты антител, vHH, неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий остов и т.п.). SAR, содержащие эпитопы, могут быть одноцепочечными или многоцепочечными.

Включение эпитопов, специфичных для моноклональных антител и других антигенсвязывающих агентов (например, vHH, неиммуноглобулиновые антигенсвязывающие домены и т.п.) во внеклеточный домен SAR, описанных в настоящей заявке, позволяет сортировать и истощать сконструированные иммунные клетки, экспрессирующие SAR. В некоторых воплощениях этот признак также способствует восстановлению эндогенных клеток, экспрессирующих антиген, которые были истощены введением сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих SAR.

Соответственно, в некоторых воплощениях раскрытие относится к способу сортировки и/или истощения сконструированных иммунных клеток, снабженных SAR, содержащими эпитопы, специфичные для антигенсвязывающих агентов (например, mAb), и к способу стимулирования восстановления эндогенных антигенэкспрессирующих клеток (т.е. нормальных здоровых клеток, которые экспрессируют антиген, на который нацелены клетки SAR), такие как клетки-предшественники костного мозга.

Несколько пар эпитоп-моноклональное антитело можно использовать для создания SAR, содержащих эпитопы, специфичные для моноклонального антитела; в частности, те, которые уже одобрены для медицинского применения, такие как эпитоп CD20/ритуксимаб в качестве неограничивающего примера.

Изобретение также охватывает способы сортировки сконструированных иммунных клеток, снабженных антиген-специфичными SAR, экспрессирующими mAb-специфичный(ие) эпитоп(ы), и терапевтические способы, в которых активация сконструированных иммунных клеток, снабженных этими SAR, модулируется путем истощения клеток с применением антитела, которое нацелено на внешний лигандсвязывающий домен указанных SAR.

В некоторых воплощениях SAR-T-клетка содержит полинуклеотид, кодирующий суицидный полипептид, такой как, например, RQR8. См., например, WO 2013153391 A,

которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой. В SAR-T-клетках или SAR-NK, содержащих полинуклеотид, суицидный полипептид экспрессируется на поверхности SAR-T-клеток или клеток SAR-NK. В некоторых воплощениях суицидный полипептид содержит аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 22419.

Суицидный полипептид может также содержать сигнальный пептид на аминоконце, например, сигнальный пептид CD8 (SEQ ID NO: 10721).

Когда суицидный полипептид экспрессируется на поверхности CAR-T-клетки, связывание ритуксимаба с R-эпитопами полипептида вызывает лизис клетки. С каждым полипептидом, экспрессируемым на поверхности клетки, может связываться более одной молекулы ритуксимаба. Каждый R-эпитоп полипептида может связывать отдельную молекулу ритуксимаба. Делеция антиген-специфичных SAR-T-клеток может происходить *in vivo*, например, при введении пациенту ритуксимаба. Решение об удалении перенесенных клеток может быть обусловлено нежелательными эффектами, обнаруженными у пациента, которые связаны с перенесенными клетками, например, при обнаружении неприемлемых уровней токсичности.

В некоторых воплощениях при введении пациенту сконструированные иммунные клетки, экспрессирующие на своей клеточной поверхности любой из антиген-специфичных SAR, описанных в настоящей заявке, могут снижать, уничтожать или лизировать эндогенные антиген-экспрессирующие клетки пациента. В одном воплощении процентное снижение или лизис антиген-X-экспрессирующих эндогенных клеток или клеток клеточной линии, экспрессирующих антиген X, с помощью сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих любой из антиген-X-специфичных SAR, описанных в настоящей заявке, составляет по меньшей мере около или более 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%. В одном воплощении процентное снижение или лизис антиген-X-экспрессирующих эндогенных клеток или клеток клеточной линии, экспрессирующих антиген X, с помощью сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих любой из антиген-X-специфичных SAR, описанных в настоящей заявке, составляет от около 5% до около 95%. от около 10% до около 95%, от около 10% до около 90%, от около 10% до около 80%, от около 10% до около 70%, от около 10% до около 60%, от около 10% до около 50%, от около 10% до около 40%, от около 20% до около 90%, от около 20% до около 80%, от около 20% до около 70%, от около 20% до около 60%, от около 20% до около 50%, от около 25% до около 75% или от около 25% до около 60%. В одном воплощении эндогенные антиген-X-экспрессирующие клетки представляют собой эндогенные антиген-X-экспрессирующие клетки костного мозга. В примерном воплощении

эндогенный антиген X выбран из группы, включающей, без ограничения указанным, CD19, CD33, CD34, CD123, MPL, CD70, CD20, CD22, CD30, BCMA, SLAMF7, CD138, CLL1, CD38 или их сочетание.

В одном воплощении процент снижения или лизиса клеток-мишеней, например, клеточной линии, экспрессирующей антиген X, с помощью сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих на мембране своей клеточной поверхности антиген-X-специфичный SAR раскрытия, можно измерить с помощью анализа, описанного в настоящей заявке (например, проточной цитометрии).

В одном аспекте предложены способы сортировки *in vitro* популяции иммунных клеток, где подгруппа популяции иммунных клеток включает сконструированные иммунные клетки, экспрессирующие любой из антиген-X-специфичных SAR, содержащих эпитопы, специфичные для антигенсвязывающего агента (например, моноклонального антитела, поликлонального антитела, vHH, дарпин, центрина и т.п.), описанного в настоящей заявке. Способ включает приведение популяции иммунных клеток в контакт с антигенсвязывающим агентом (например, моноклональным антителом), специфичным в отношении эпитопов, и отбор иммунных клеток, которые связываются с антигенсвязывающим агентом (например, моноклональным антителом), для получения популяции клеток, обогащенной сконструированными иммунными клетками, экспрессирующими антиген X-специфичный SAR.

В некоторых воплощениях указанный антигенсвязывающий агент (например, моноклональное антитело), специфичный в отношении указанного эпитопа, необязательно конъюгирован с флуорофором. В этом воплощении стадия отбора клеток, которые связываются с антигенсвязывающим агентом (например, моноклональным антителом), можно проводить с помощью сортировки клеток, активируемой флуоресценцией (FACS). В некоторых воплощениях указанный антигенсвязывающий агент (например, моноклональное антитело), специфичный в отношении указанного эпитопа, необязательно конъюгирован с магнитной частицей. В этом воплощении стадию отбора клеток, которые связываются с антигенсвязывающим агентом (например, моноклональным антителом), можно проводить с помощью магнитно-активируемой сортировки клеток (MACS).

В некоторых воплощениях внеклеточный связывающий домен SAR содержит mAb-специфичный эпитоп одной или нескольких последовательностей SEQ ID NO: 22411-22432.

В соответствии с изобретением клетки, предназначенные для введения реципиенту, могут быть обогащены *in vitro* из исходной популяции. Способы размножения исходных

популяций известны в данной области и могут включать отбор клеток, которые экспрессируют антиген, такой как антиген CD34, с применением комбинаций центрифугирования в градиенте плотности, очистки с помощью иммуномагнитных гранул, аффинной хроматографии и сортировки клеток с активированной флуоресценцией, известных специалистам в данной области.

В некоторых воплощениях способ, используемый для сортировки иммунных клеток, экспрессирующих SAR, представляет собой сортировку клеток с магнитными гранулами (MACS).

В некоторых воплощениях mAb, используемое в способе сортировки иммунных клеток, экспрессирующих SAR, выбирают из группы, включающей алемтузумаб, ибритумомаб, тиуксетан, муромонаб-CD3, тозитумомаб, абциксимаб, базиликсимаб, брентуксимаб ведотин, цетуксимаб, инфликсимаб, ритуксимаб, бевацизумаб, цертолизумаб пегол, даклизумаб, экулизумаб, эфализумаб, гемтузумаб, натализумаб, омализумаб, паливизумаб, ранибизумаб, тоцилизумаб, трастузумаб, ведолизумаб, адалимумаб, белимумаб, канакинумаб, деносумаб, голимумаб, ипилимумаб, офатумумаб, панитумумаб, QBEND-10 и/или устекинумаб. В некоторых воплощениях указанное mAb представляет собой ритуксимаб. В другом воплощении указанное mAb представляет собой QBEND-10.

В некоторых воплощениях клетка SAR-T или SAR-NK содержит выбранный эпитоп внутри scFv, обладающий специфичностью, которая должна распознаваться специфическим антителом. См., например, W02016/120216, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой. Такой эпитоп облегчает сортировку и/или истощение SAR-T-клеток или SAR-NK. Эпитоп может быть выбран из любого количества эпитопов, известных в данной области. В некоторых воплощениях эпитоп может быть мишенью моноклонального антитела, одобренного для медицинского применения, такого как, например, без ограничения указанным, эпитоп CD20, распознаваемый ритуксимабом.

В некоторых воплощениях эпитоп расположен в пределах SAR. В одном воплощении эпитоп присоединен к N-концу или к N-концу фрагмента vL и/или vH, содержащего антигенсвязывающий домен SAR (например, CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, SIR, cTCR, Ab -TCR, zSIR, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ , $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP, TCR, HLA-независимый TCR и т.п.). В одном воплощении эпитоп присоединен к N-концу или к N-концу фрагмента AABD, содержащего антигенсвязывающий домен SAR (например, CAR 1-го поколения, CAR 2-го поколения, SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD). -TCR, zSIR, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ , $\alpha\beta$ TFP, $\gamma\delta$ TFP, TCR, HLA-независимый TCR и т.п.). В одном воплощении эпитоп отделен от антигенсвязывающего домена SAR посредством линкера. В некоторых

воплощениях в SAR можно использовать два экземпляра одного и того же эпитопа, разделенные линкерами.

В некоторых воплощениях антитело, специфичное к эпитопу, может быть конъюгировано с цитотоксическим лекарственным средством. Также возможно повысить CDC-цитотоксичность с помощью сконструированных антител, на которые привиты компоненты системы комплемента. В некоторых воплощениях активацию CAR-T-клеток можно модулировать путем истощения клеток с применением антитела, которое распознает эпитоп.

Описанные в данном документе SAR могут быть синтезированы в виде одиночных полипептидных цепей. В этом воплощении антиген-специфичные области нацеливания находятся на N-конце, расположены тандемно и разделены линкерным пептидом.

В другом аспекте раскрытие относится к выделенной молекуле полипептида SAR, содержащей один или несколько антигенсвязывающих доменов (например, антитело или фрагмент антитела, лиганд или рецептор), которые связываются с антигенами, как описано в настоящей заявке, и соединены с одной или несколькими константными цепями T-клеточного рецептора.

В некоторых воплощениях SAR может содержать или состоять из одного полипептида, который содержит один антигенсвязывающий домен, соединенный с NH₂-концом константной цепи одного T-клеточного рецептора (класс 1).

В некоторых воплощениях SAR содержит или состоит из двух полипептидов, которые собираются для образования функционального SAR (класс 2). Каждый из полипептидов такого двухцепочечного SAR класса 2 содержит константную цепь T-клеточного рецептора и содержит (как в классе 2A) или не содержит (как в классе 2B) один или несколько антигенсвязывающих доменов. В SAR класса 2A каждый из антигенсвязывающих доменов присоединен к N-концу отдельной константной цепи T-клеточного рецептора. Например, антигенсвязывающий домен 1 (например, vL-фрагмент антитела) присоединяется к константной цепи T-клеточного рецептора бета (TCR β), образуя функциональную полипептидную единицу 1, а антигенсвязывающий домен 2 (vH-фрагмент антитела) присоединяется к константной цепи T-клеточного рецептора α (TCR α), образуя функциональную полипептидную единицу 2. Две функциональные полипептидные единицы такого SAR коэкспрессируются в одной и той же клетке и соединяются друг с другом, чтобы стать функционально активными. Следует отметить, что каждый из антигенсвязывающих доменов может быть, в свою очередь, биспецифическим или мультиспецифическим, что позволяет SAR класса 2 воздействовать на более чем 2 антигена.

В некоторых воплощениях SAR с двойной полипептидной цепью содержит или состоит из антигенсвязывающего домена, который присоединен к NH₂-концу только одной константной цепи Т-клеточного рецептора (функциональная полипептидная единица 1), но коэкспрессируется со второй константной цепью Т-клеточного рецептора. Такие SAR обозначаются как класс 2В. Предназначением второй константной цепи Т-клеточного рецептора в таких SAR класса 2В является облегчение экспрессии функциональной полипептидной единицы 1 на клеточной поверхности (т.е. антигенсвязывающего домена 1, присоединенного к константной цепи Т-клеточного рецептора). Таким образом, константная цепь второго Т-клеточного рецептора в SAR класса 2В может экспрессироваться сама по себе или экспрессироваться в виде гибридного белка, несущего эпитопную метку (например, MYC, V5, AcV5, G4Sx2, StrepTagII и т.п.), или экспрессироваться в виде гибридного белка, несущего какой-либо нерелевантный фрагмент белка (например, фрагмент vL или vH) при условии, что нерелевантный белок не мешает сборке и функционированию функциональной единицы 1. Например, SAR класса 2В может содержать или состоять из антигенсвязывающего домена 1, присоединенного к константной цепи Т-клеточного рецептора альфа (TCR α), которые вместе составляют функциональную полипептидную единицу 1, и пустой (т.е. без антигенсвязывающего домена) константной цепи Т-клеточного рецептора β (TCR β), составляющего функциональную полипептидную единицу 2.

В некоторых воплощениях две функциональные полипептидные единицы SAR класса 2 коэкспрессируются в клетке с применением разных векторов. В некоторых воплощениях две функциональные полипептидные единицы SAR класса 2 коэкспрессируются в клетке с применением одного вектора, который использует два отдельных регуляторных элемента (например, промотора) для кодирования двух полинуклеотидов, кодирующих две функциональные полипептидные единицы SAR класса 2. В некоторых воплощениях две функциональные полипептидные единицы SAR класса 2 коэкспрессируются в клетке с применением одного вектора, который использует один промотор для экспрессии полинуклеотида, содержащего последовательность IRES, которая разделяет нуклеотидные фрагменты, кодирующие два полипептида SAR. В некоторых воплощениях две функциональные полипептидные единицы SAR класса 2 коэкспрессируются в клетке с применением одного вектора, который использует один промотор для экспрессии полинуклеотида, кодирующего один полипептид, содержащий расщепляемый линкер (например, F2A, T2A, E2A, P2A, Furine-SGSG-F2A, Furine-SGSG-T2A, Furine-SGSG-E2A, Furine-SGSG-P2A и т.п.). Полученная мРНК кодирует один полипептид, который впоследствии генерирует две функциональные полипептидные

единицы SAR. В некоторых воплощениях две функциональные полипептидные единицы SAR класса 2 коэкспрессируются с помощью трансфекции одной последовательности мРНК, которая кодирует обе функциональные полипептидные единицы, тогда как в других воплощениях две функциональные полипептидные единицы коэкспрессируются путем трансфекции двух разных последовательностей мРНК, каждая кодирует одну функциональную полипептидную единицу. В некоторых воплощениях вектор или мРНК, кодирующая SAR, может кодировать дополнительные гены/белки (терапевтические контроли, ингибирующие молекулы, вспомогательные модули и т.п.), которые могут быть отделены от последовательностей, кодирующих SAR, с помощью IRES или расщепляемых линкеров или их комбинации. В другом воплощении терапевтический контроль или вспомогательный модуль или оба могут быть экспрессированы в клетке, в которой экспрессируется SAR, с применением отдельного вектора или мРНК. Следует понимать, что терапевтические элементы управления или вспомогательные модули не являются существенными для функции SAR, и любой из SAR согласно воплощению можно использовать без терапевтического управления или вспомогательных модулей. Например, кассета устойчивости к антибиотикам, такая как PAC (ген устойчивости к пурамицину), может быть удалена из векторов, кодирующих SAR, по настоящему изобретению без ущерба для функциональности SAR.

Также предлагаются функциональные варианты описанных в данном документе SAR, которые имеют существенную или значительную идентичность последовательности или сходство с исходным SAR, при этом функциональный вариант сохраняет биологическую активность SAR, вариантом которого он является. Функциональные варианты охватывают, например, те варианты SAR, описанные в настоящей заявке (исходный SAR), которые сохраняют способность распознавать клетки-мишени в такой же степени, в той же степени или в большей степени, что и исходный SAR. В отношении исходного SAR функциональный вариант может быть, например, идентичен по меньшей мере на около 30%, около 50%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 91%, около 92%, около 93%, около 94%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98%, около 99% или более по аминокислотной последовательности исходному SAR.

Функциональный вариант может, например, содержать аминокислотную последовательность исходного SAR по меньшей мере с одной консервативной аминокислотной заменой. Альтернативно, функциональные варианты могут содержать аминокислотную последовательность исходного SAR по меньшей мере с одной неконсервативной аминокислотной заменой. В этом случае предпочтительно, чтобы неконсервативная аминокислотная замена не мешала и не ингибировала биологическую

активность функционального варианта. Неконсервативная аминокислотная замена может усиливать биологическую активность функционального варианта, так что биологическая активность функционального варианта повышается по сравнению с исходным SAR.

SAR (включая функциональные части и функциональные варианты) могут иметь любую длину, т.е. могут содержать любое количество аминокислот, при условии, что SAR (или их функциональные части или функциональные варианты) сохраняют свою биологическую активность, например, способность специфически связываться с антигеном, обнаруживать больные клетки у млекопитающего или лечить или предотвращать заболевание у млекопитающего и т.п. Например, SAR может иметь длину от около 300 до около 5000 аминокислот, например, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 или более аминокислот.

В другом аспекте раскрытие относится к выделенной конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту, кодирующую SAR, как определено выше. В одном воплощении нуклеиновая кислота кодирует белок, нацеленный на одну или несколько мишеней, перечисленных в таблице В.

Нуклеиновые кислоты и аминокислотные SEQ ID No подходящих последовательностей SAR в рамках объема изобретения перечислены в таблицах 25-36 и 41-50. Также в объем настоящего изобретения входят последовательности с гомологией по меньшей мере 60%, 70%, 80% или 90%.

Термин «нуклеиновая кислота», «полинуклеотид» или «молекула нуклеиновой кислоты» относится к дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) или рибонуклеиновой кислоте (РНК) или комбинации ДНК или РНК. РНК включает транскрибированную *in vitro* РНК или синтетическую РНК; последовательность мРНК, кодирующая полипептид SAR, как описано в настоящей заявке). Нуклеиновая кислота может дополнительно содержать суицидный ген. Нуклеиновая кислота может дополнительно содержать переключатель уничтожения. Нуклеиновая кислота может дополнительно содержать терапевтический контрольный или вспомогательный модуль. Конструкция может быть в форме плазмиды, вектора, транскрипционной или экспрессирующей кассеты.

В одном воплощении вектор представляет собой вектор, транскрибируемый *in vitro*, например, вектор, который транскрибирует РНК молекулы нуклеиновой кислоты, описанной в настоящей заявке. Экспрессирующий вектор может быть введен в клетку в виде вирусного вектора. Технология вирусных векторов хорошо известна в данной области и описана, например, в Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2013). Для переноса генов в клетки млекопитающих был разработан ряд систем, основанных на вирусах. Например,

используются ретровирусы, такие как аденовирусные векторы. В одном воплощении используется лентивирусный вектор. Это показано в примерах. Раскрытие также относится к вирусу, содержащему SAR, описанный выше.

Раскрытие также включает конструкцию РНК, которая может быть непосредственно трансфецирована в клетку. Способ получения мРНК для использования в трансфекции включает транскрипцию *in vitro* (англ. IVT, *in vitro* transcription) матрицы со специально разработанными праймерами с последующим добавлением поли-А для получения конструкции, содержащей 3'- и 5'-нетранслируемую последовательность («UTR», англ. untranslated sequence) (например, 3'- и/или 5'-UTR, описанные в настоящей заявке), 5'-кэп (например, 5'-кэп, описанный в настоящей заявке) и/или участок внутренней посадки рибосомы (IRES) (например, IRES, описанный в настоящей заявке), нуклеиновую кислоту которая должна быть экспрессирована, и поли-А-хвост обычно длиной 50-2000 оснований (SEQ ID NO:13-16). Полученная таким образом РНК может эффективно трансфицировать различные типы клеток. В одном воплощении матрица включает последовательности для SAR. В одном воплощении РНК SAR-вектора трансдуцируется в клетку, например, Т-клетку или НК-клетку, путем электропорации. В другом воплощении РНК-SAR-вектор трансдуцируют в клетку, например, Т-клетку или НК-клетку, вызывая временные возмущения в клеточной мембране с помощью микрожидкостного устройства. Различные цепи (или функциональные полипептидные звенья) SAR также могут быть введены в клетку с применением одного или более чем одного вектора, комбинации различных векторов или методов.

В другом воплощении одна цепь или функциональная полипептидная единица SAR может быть введена с применением ретровирусного вектора, в то время как другая функциональная полипептидная единица может быть введена с применением лентивирусного вектора. В другом аспекте одну функциональную полипептидную единицу вводят с применением лентивирусного вектора, тогда как другую функциональную полипептидную единицу вводят с помощью транспозона Sleeping Beauty. В еще одном аспекте одну функциональную полипептидную единицу вводят с помощью лентивирусного вектора, тогда как другую функциональную полипептидную единицу вводят с помощью трансфекции РНК. В еще одном аспекте одну функциональную полипептидную единицу продуцируют в клетке путем генетической рекомбинации в эндогенных локусах цепи TCR с применением способов направленного воздействия на ген, известных в данной области, тогда как другую функциональную полипептидную единицу вводят с применением лентивирусного или ретровирусного вектора.

РНК может быть введена в клетки-мишени с применением любого из ряда различных способов, которые включают, без ограничения указанным, электропорацию, опосредованную катионными липосомами трансфекцию с применением липофекции, полимерную инкапсуляцию, опосредованную пептидами трансфекцию или системы доставки биологических частиц, такие как «генные пушки» (см., например, Nishikawa, et al. *Hum Gene Ther.*, 12(8):861-70 (2001) или вызывая кратковременные возмущения в клеточных мембранах с помощью микрофлюидного устройства (см., например, патентные заявки WO 2013/059343 A1 и PCT/US 2012/060646).

В некоторых воплощениях невирусный способ включает применение транспозона (также называемого мобильным элементом). В некоторых воплощениях транспозон представляет собой фрагмент ДНК, который может встраиваться в определенное место в геноме, например, фрагмент ДНК, способный к саморепликации и встраиванию своей копии в геном, или фрагмент ДНК, который может быть сплайсирован из более длинной нуклеиновой кислоты и вставлен в другое место генома. Например, транспозон содержит последовательность ДНК, состоящую из инвертированных повторов, фланкирующих гены для транспозиции. Примеры способов доставки нуклеиновой кислоты с применением транспозона включают систему транспозонов Sleeping Beauty (англ. SBTS, Sleeping Beauty transposon system) и систему транспозонов piggyBac (PB).

В некоторых воплощениях получают клетки, например, Т или НКТ, или стволовые клетки, или iPSC, или синтетические Т-клетки, которые экспрессируют SAR, описанный в настоящей заявке, с применением комбинации генной вставки с применением SBTS и генетического редактирования с применением нуклеазы (например, нуклеаз с «цинковыми пальцами» (англ. ZFN, Zinc finger nucleases), нуклеаз на основе эффектора, подобного активатору транскрипции (англ. TALEN, Transcription Activator-Like Effector Nucleases), системы CRISPR/Cas или сконструированных мегануклеаз, модифицированных самонаводящихся эндонуклеаз).

В некоторых воплощениях применение невирусного способа доставки позволяет перепрограммировать клетки, например, Т или НКТ, или стволовые клетки, или iPSC, или синтетические Т-клетки, и напрямую инфузировать клетки субъекту. Преимущества невирусных векторов включают, без ограничения указанным, простоту и относительно низкую стоимость получения достаточного количества, необходимого для удовлетворения популяции пациентов, стабильность при хранении и отсутствие иммуногенности.

В дополнительном аспекте изобретение также относится к выделенной клетке или клеточной популяции, содержащей одну или несколько конструкций нуклеиновой кислоты, как описано выше. Таким образом, клетка была генетически модифицирована

для экспрессии конструкции нуклеиновой кислоты SAR по изобретению. Таким образом, раскрытие относится к генетически сконструированным клеткам, которые содержат и стабильно экспрессируют конструкцию нуклеиновой кислоты SAR по изобретению. В одном воплощении клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки, НКТ-клетки, клетки-естественного киллера (NK), цитотоксического Т-лимфоцита (CTL), регуляторной Т-клетки, гемопоэтических стволовых клеток и/или плюрипотентных эмбриональных/индуцированных стволовых клеток. Т-клетки могут быть выделены из пациента для трансфекции нуклеотидной конструкцией SAR по изобретению.

В данной заявке конкретно предполагается, что каждый из описанных в данном документе отдельных воплощений может быть объединен, например, в одной клетке. В качестве неограничивающего примера, одна клетка может содержать первый полный многокомпонентный SAR и второй частичный многокомпонентный SAR, при этом каждый многокомпонентный SAR может соответствовать любому из воплощений, описанных в настоящей заявке.

Например, клетки могут быть трансфицированы нуклеиновой кислотой по настоящему изобретению *ex vivo*. Различные способы дают стабильные трансфектанты, которые экспрессируют SAR по изобретению. В одном воплощении способ стабильной трансфекции и перенаправления клеток представляет собой электропорацию с применением «голой» ДНК. Дополнительные способы генной инженерии клеток с применением «голой» ДНК, кодирующей SAR раскрытия, включают, без ограничения указанным, способы химической трансформации (например, с применением фосфата кальция, дендримеров, липосом и/или катионных полимеров), способы нехимической трансформации (например, электропорацию, оптическую трансформацию, электроперенос генов и/или гидродинамическую доставку) и/или способы на основе частиц (например, импалефекцию, применение генной пушки и/или магнитофекцию). Трансфицированные клетки, демонстрирующие присутствие интегрированного неперегруппированного вектора и экспрессию SAR, могут быть размножены *ex vivo*. Способы вирусной трансдукции также можно использовать для получения перенаправленных клеток, которые экспрессируют SAR по изобретению.

В некоторых воплощениях вектор по настоящему изобретению может дополнительно содержать промотор. Неограничивающие примеры промотора включают, например, промотор EF1 α , вариант промотора EF1 α (SEQ ID NO: 7), промотор гена CMV IE, промотор MNDU3 (SEQ ID NO: 24), промотор убиквитина С, кор-промотор или промотор фосфоглицераткиназы (PGK). В некоторых воплощениях вектор представляет собой нуклеиновую кислоту РНК. В некоторых воплощениях вектор содержит поли(А)-

хвост. Например, в настоящей заявке рассматривается поли(A)-хвост, содержащий около 150 аденозиновых оснований (SEQ ID NO: 13-16). В некоторых воплощениях вектор содержит 3'UTR. В одном воплощении SAR экспрессируется под контролем синтетического notch (SynNotch) комбинаторной антигенной цепи (Dannenfelser et al., 2020, Cell Systems 11, 215–228).

В другом аспекте раскрытие относится к способу получения клетки (например, иммунной эффекторной клетки или ее популяции), включающему введение (например, трансдукцию) в клетку, например, Т-клетку, НКТ-клетку или стволовую клетку или iPSC или синтетическую Т-клетку, описанную в настоящей заявке, вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую SAR, например, описанный в настоящей заявке SAR; или нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу SAR, например, SAR, описанный в настоящей заявке.

Клетка может быть иммунной эффекторной клеткой (например, Т-клеткой, НКТ-клеткой, НК-клеткой, моноцитом/макрофагом или их комбинацией) или стволовой/прогениторной клеткой, которая может давать иммунную эффекторную клетку или синтетическую Т-клетку. В некоторых воплощениях клетка в способах является дефицитной по диаглицеролкиназе (DGK) и/или Ikaros. В некоторых воплощениях клетка в способах дефицитна по константным цепям эндогенного Т-клеточного рецептора α , $\beta 1$, $\beta 2$, пре-TCR α , γ или δ или их комбинации. В некоторых воплощениях клетка в способах дефицитна по антигенам HLA. В некоторых воплощениях клетка в способах дефицитна по $\beta 2$ -микроглобулину. В некоторых воплощениях клетка в способах дефицитна по экспрессии антигена-мишени SAR. Например, SAR-экспрессирующая Т-клетка, имеет дефицит эндогенного CD5 в случае, если SAR направлен против CD5, или дефицит константной цепи TCR-бета1, в случае если SAR направлен против константной цепи TCR-бета1, или дефицит константной цепи TCR-бета2. в случае, если SAR направлен против TCR-бета2 или дефицит CS1 в случае, если SAR направлен против CS1.

В некоторых воплощениях введение молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей SAR, включает трансдукцию вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую SAR, или трансфекцию молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей SAR, где молекула нуклеиновой кислоты представляет собой транскрибируемую *in vitro* РНК. В некоторых воплощениях молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая два или несколько компонентов SAR, вводится путем трансдукции клетки более чем одним вектором или трансфекции двумя или более молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими разные субъединицы SAR. Например, клетка может быть трансдуцирована двумя отдельными векторами, каждый из которых кодирует одну из двух функциональных полипептидных

единиц SAR. Точно так же клетка может быть трансдуцирована двумя отдельными транскрибируемыми *in vitro* РНК, каждая из которых кодирует одну из двух функциональных полипептидных единиц SAR. В дополнение к функциональным полипептидным единицам SAR каждая из РНК может нести другой маркер селекции или репортер (например, tEGFR, или CD34, или CNB30, или мутантный DHFR), которые можно использовать для отбора клеток, трансдуцированных обеими РНК, и, таким образом, экспрессирующие обе функциональные полипептидные единицы SAR.

В некоторых воплощениях способ дополнительно включает: а) получение популяции иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток или НК-клеток); и б) удаление регуляторных Т-клеток из популяции, тем самым обеспечивая популяцию Т-клеток, истощенных по регуляторным; при этом стадии а) и б) осуществляют перед введением популяции нуклеиновой кислоты, кодирующей SAR. В воплощениях способов регуляторные Т-клетки содержат CD25+ Т-клетки и удаляются из клеточной популяции с применением антитела к CD25 или его фрагмента. Антитело к CD25 или его фрагмент можно функционально связать с субстратом, например, гранулой. В других воплощениях популяция иммунных эффекторных клеток, лишенная регуляторных Т-клеток, полученных на стадии (б), содержит менее 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% CD25+ клеток. В еще других воплощениях способ дополнительно включает: удаление клеток из популяции, которые экспрессируют антиген, ассоциированный с заболеванием, который не содержит CD25, для получения популяции клеток, истощенной по регуляторным Т-клеткам, и клеток, истощенных по антигену, ассоциированному с заболеванием, перед введением нуклеиновой кислоты, кодирующей SAR для популяции. Антиген, ассоциированный с заболеванием, может быть выбран из CD19, CD30, CD123, CD20, CD22, CD33, CD138, VCMA, Lym1, Lym2, CD79b, CD170, CD179b, CD14 или CD11b или их комбинации.

В других воплощениях способ дополнительно включает истощение клеток из популяции, которые экспрессируют ингибитор контрольной точки, для получения популяции клеток, истощенной по регуляторным Т-клеткам и истощенной по ингибирующей молекуле перед введением нуклеиновой кислоты, кодирующей SAR, в популяцию. Ингибитор контрольной точки можно выбрать из CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM3, B7-H1, CD160, P1H, 2B4, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), TIGIT, VTLA и LAIR1.

В раскрытии также предлагаются рекомбинантные клетки, например, иммунная эффекторная клетка (например, популяция клеток, например, популяция иммунных эффекторных клеток) и/или стволовая клетка (например, гемопозитическая стволовая

клетка, стволовая клетка периферической крови, стволовая клетка, полученная из костного мозга, иммунная стволовая клетка, индуцированная плюрипотентная стволовая клетка или iPSC), содержащая молекулу нуклеиновой кислоты, молекулу полипептида SAR или вектор, как описано в настоящей заявке.

В некоторых воплощениях клетка представляет собой иммунную клетку. Неограничивающие примеры иммунных клеток включают Т-клетки, НКТ-клетки, НК-клетки и моноциты/макрофаги. Кроме того, неограничивающие примеры Т-клеток включают Treg, CD8⁺ Т-клетки и CD4⁺ Т-клетки. В одном воплощении клетка представляет собой Т-клетку человека. В некоторых воплощениях клетка представляет собой клетку человека. В некоторых воплощениях клетка представляет собой клетку собаки.

В одном воплощении клетка человека представляет собой Т-клетку, НКТ-клетку или НК-клетку, которая экспрессирует Р-гликопротеин (Р-gp или Pgp; MDR1, ABCB1, CD243). В одном воплощении клетка человека представляет собой Т-клетку, НКТ-клетку или НК-клетку, которая окрашивается красителями, которые являются субстратами оттока, опосредованного Р-гликопротеином. В одном воплощении клетка человека представляет собой Т-клетку, НКТ-клетку или НК-клетку, которая устойчива к лекарственному средству, транспортируемому Р-gp. В одном воплощении клетка представляет собой Т-клетку, как описано в заявке № PCT/US2017/042248, которая включена в настоящее описание ссылкой. В некоторых воплощениях клетки, в которых отсутствует экспрессия Р-gp или активность Р-gp, удаляют из популяции.

Одноцепочечные и двухцепочечные SAR раскрытия могут экспрессироваться в Т-клетках, в которых экспрессия эндогенных цепей TCR α (TRAC), TCR β (TRBC), TCR γ (TRGC) и/или TCR δ (TRDC) снижена или устранена с применением способов, известных в данной области. Такие Т-клетки, в которых снижена или устранена экспрессия эндогенных функциональных цепей TRAC, TRBC, TRGC и/или TRDC, могут быть использованы для целей аллогенной клеточной терапии.

В одном воплощении клетка представляет собой Т-клетку, и эта Т-клетка дефицитна по одной или нескольким цепям эндогенных Т-клеточных рецепторов. Т-клетки, в которых стабильно отсутствует экспрессия функционального TCR согласно настоящему изобретению, могут быть получены с применением различных подходов, таких как применение нуклеаз с «цинковыми пальцами» (ZFN), CRISPR/Cas9 и кшРНК, нацеленных на цепи эндогенных Т-клеточных рецепторов. Неограничивающий примерный способ, относящийся к кшРНК, описан в US 2012/0321667A1, который включен в настоящую заявку ссылкой. Другой неограничивающий примерный способ,

относящийся к устранению эндогенной экспрессии TCR с применением ZFN, нацеленных на константные области α - и β -цепей TCR, описан у Torikai H et al (Blood, 119(24), June, 14 2012). Способы создания Т-клеток со сниженной или исключенной экспрессией одной или нескольких цепей TCR с применением CRISP/Cas9 также известны в данной области. Следует отметить, что в некоторых воплощениях SAR раскрытия содержат константные цепи TCR, которые оптимизированы по кодонам или сконструированы таким образом, чтобы отличаться нуклеотидными последовательностями от эндогенных константных цепей TCR и, следовательно, не подвергаться направленному воздействию с помощью CRISP/Cas9, ZFN и/или кшРНК, нацеленных на эндогенные константные цепи TCR.

Т-клетка, лишенная функционального эндогенного TCR, может быть, например, сконструирована таким образом, что она не экспрессирует какой-либо функциональный эндогенный TCR на своей поверхности, сконструирована таким образом, что клетка не экспрессирует одну или несколько субъединиц (например, константные цепи эндогенных TCR α , TCR β 1, TCR β 2, TCR γ , TCR δ или пре-TCR α), которые содержат функциональный эндогенный TCR или сконструированы таким образом, что они продуцируют очень мало функциональных эндогенных TCR на своей поверхности. В качестве альтернативы Т-клетка может экспрессировать эндогенный TCR с существенным нарушением, например, путем экспрессии мутантных или укороченных форм одной или нескольких субъединиц TCR. Термин «существенно нарушенный TCR» означает, что этот TCR не будет вызывать неблагоприятную иммунную реакцию у хозяина. Немодифицированные TCR обычно плохо экспрессируются в первичных Т-клетках человека при эктопической экспрессии (например, с применением ретровирусных или лентивирусных векторов), что позволяет предположить, что они неэффективно конкурируют с эндогенными цепями TCR за экспрессию на клеточной поверхности. Однако оптимизация цепей TCR для эффективной трансляции в клетках человека приводит к лучшей экспрессии введенного TCR. Что еще более важно, эктопическая экспрессия таких доминантных TCR предотвращала поверхностную экспрессию большей части репертуара эндогенных TCR в Т-клетках человека.

SAR с каркасами TFP, содержащими цепи CD3 ϵ , CD3 γ и CD3 δ (обозначаемые как CD3 $\epsilon/\gamma/\delta$ TFP), имеют плохую экспрессию и активность при экспрессии в $\alpha\beta$ Т-клетках, у которых отсутствует или нарушен функциональный эндогенный или нативный полипептид цепи TCR α или TCR β на их поверхности. Например, SAR, представленные SEQ ID NO: 4110-4112, имеют нарушенную экспрессию и активность (например, активацию Т-клеток, пролиферацию, продуцирование цитокинов и цитотоксичность и т.п.) в $\alpha\beta$ Т-клетках, в которых нарушен эндогенный геномный локус TRAC. В раскрытии

предлагается решение этой проблемы путем повторной экспрессии полипептида с константной цепью TCR α (цепи TRAC) или его фрагмента в Т-клетках, в которых экспрессия нативного полипептида с полной длиной цепи TCR α была снижена или устранена, как описано в WO 2019067805, которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой. В примерном воплощении экспрессия и сигнальная активность SAR на каркасе CD3 ϵ / γ / δ каркаса могут быть восстановлены в $\alpha\beta$ Т-клетках, в которых экспрессия нативной цепи TCR α снижена или устранена путем экспрессии в таких Т-клетках конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей экзогенную константную цепь TCR α (цепь TRAC) (например, SEQ ID NO (DNA): 1045 и SEQ ID NO (PRT): 11735) или ее фрагмент. В другом примерном воплощении экспрессия и сигнальная активность SAR на каркасе CD3 ϵ / γ / δ каркаса могут быть восстановлены в $\alpha\beta$ Т-клетках, в которых экспрессия нативной цепи TCR β снижена или устранена путем экспрессии в таких Т-клетках конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей экзогенную константную цепь TCR β (цепь TRBC) (например, SEQ ID NO (DNA): 1061 и SEQ ID NO (PRT): 11751) или ее фрагмент. В другом примерном воплощении экспрессия и сигнальная активность SAR на каркасе CD3 ϵ / γ / δ каркаса могут быть восстановлены в $\gamma\delta$ Т-клетках, в которых экспрессия нативной цепи TCR γ снижена или устранена путем экспрессии в таких Т-клетках конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей экзогенную константную цепь TCR γ (цепь TRGC) (например, SEQ ID NO (DNA): 1082 и SEQ ID NO (PRT): 11771) или ее фрагмент. В другом примерном воплощении экспрессия и сигнальная активность SAR на каркасе CD3 ϵ / γ / δ каркаса могут быть восстановлены в $\gamma\delta$ Т-клетках, в которых экспрессия нативной цепи TCR δ снижена или устранена путем экспрессии в таких Т-клетках конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей экзогенную константную цепь TCR δ (цепь TRDC) (например, SEQ ID NO (DNA): 1084 и SEQ ID NO (PRT): 11774) или ее фрагмент.

В другом примерном воплощении экспрессия и сигнальная активность SAR на каркасе CD3 ϵ / γ / δ каркаса может быть восстановлена в $\alpha\beta$ Т-клетках, в которых экспрессия нативного TCR α и/или β -цепи снижена или устранена путем экспрессии в таких Т-клетках конструкции нуклеиновой кислоты, кодирующей экзогенную константную цепь TCR γ (цепь TRGC) (например, SEQ ID NO (DNA): 1082 и SEQ ID NO (PRT): 11771) или ее фрагмент и/или экзогенную константную цепь TCR δ (цепь TRDC) (например, SEQ ID NO (DNA): 1084 и SEQ ID NO (PRT): 11774) или их фрагмент.

В раскрытии также предусматривается, что экспрессия и активность SAR на каркасе CD3 ϵ / γ / δ могут быть восстановлены в Т-клетках с нарушенной или отсутствующей экспрессией нативных цепей TCR $\alpha/\beta/\gamma$ или δ путем коэкспрессии SAR на

каркасах SIR, Ab-TCR, AABD-TCR или TCR, содержащих отсутствующие константные цепи TCR $\alpha/\beta/\gamma$ или δ . В раскрытии предусматривается, что для комбинированной терапии с аллогенными Т-клетками, включающими два SAR, SAR на каркасе CD3 $\alpha/\gamma/\delta$ TFP обычно комбинируют с SAR на каркасах SIR, Ab-TCR, AABD-TCR или TCR, которые включают константную цепь TCR или фрагмент константной цепи TCR, экспрессия которых снижена или отсутствует в аллогенных Т-клетках.

В одном воплощении одноцепочечные и двухцепочечные SAR раскрытия могут быть нацелены на локус TRAC, TRBC, TRGC и/или TRDC в Т-клетках с применением способов, описанных в PCT/US2018/053247 и Eyquem J et al (Nature, 543(7643):113-117, 2017), которые полностью включены в настоящую заявку ссылкой. Такие Т-клетки, в которых эндогенные локусы TRAC, TRBC, TRGC и/или TRDC разрушены вставкой SAR, могут быть использованы для целей аллогенной клеточной терапии.

В одном воплощении SAR раскрытия экспрессируется с помощью физиологических регуляторных механизмов, обеспечиваемых эндогенными генами TCR. В одном воплощении SAR экспрессируется под промотором и 3'-нетранслируемыми регуляторными механизмами, обеспечиваемыми эндогенными генами TCR. В одном воплощении экспрессирующая кассета, кодирующая SAR, нацелена на эндогенный генный локус TCR α , TCR β 1/ β 2, TCR γ или TCR δ .

В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный генный локус TCR α (TRAC), так что константная цепь TCR α из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, или TCR) полностью или частично экспрессируется эндогенным нативным геном константной цепи TCR α . В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный генный локус TCR α (TRAC), так что константная цепь TCR α из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, или TCR) полностью или частично кодируется по меньшей мере одним из экзонов эндогенного гена константной цепи TCR α . В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный генный локус TCR α (TRAC), так что константная цепь TCR α из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, или TCR) полностью или частично разделяет 3'-нетранслируемую область и последовательность полиаденилирования нативного/эндогенного гена константной цепи TCR α .

В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный генный локус TCR β (TRBC), так что константная цепь TCR β из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, или TCR) полностью или частично экспрессируется эндогенным нативным геном константной цепи TCR β . В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный генный локус TCR β (TRBC), так что константная цепь TCR β SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, или TCR) полностью или частично кодируется по меньшей мере

одним из экзонов эндогенного гена константной цепи $TCR\beta$. В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный генный локус $TCR\beta$ (TRBC), так что константная цепь $TCR\alpha$ SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\alpha\beta$ TFP, или TCR) полностью или частично разделяет 3'-нетранслируемую область и последовательность полиаденилирования нативного/эндогенного гена константной цепи $TCR\beta$.

В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный локус гена $TCR\gamma$ (TRGC), так что константная цепь $TCR\gamma$ из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\gamma\delta$ TFP, или $\gamma\delta$ TCR) полностью или частично экспрессируется эндогенным нативным геном константной цепи $TCR\gamma$. В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный локус гена $TCR\gamma$ (TRGC), так что константная цепь $TCR\gamma$ из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\gamma\delta$ TFP, или $\gamma\delta$ TCR) полностью или частично кодируется по меньшей мере одним из экзонов эндогенного гена константной цепи $TCR\gamma$. В одном воплощении SAR нацелен на локус эндогенного гена $TCR\gamma$ (TRGC), так что константная цепь $TCR\gamma$ из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\gamma\delta$ TFP, или $\gamma\delta$ TCR) полностью или частично разделяет 3'-нетранслируемую область и последовательность полиаденилирования нативного/эндогенного гена константной цепи $TCR\gamma$.

В одном воплощении SAR нацелен на локус эндогенного гена $TCR\delta$ (TRDC), так что константная цепь $TCR\delta$ из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\gamma\delta$ TFP, или $\gamma\delta$ TCR) полностью или частично экспрессируется эндогенным нативным геном константной цепи $TCR\delta$. В одном воплощении SAR нацелен на локус эндогенного гена $TCR\delta$ (TRDC), так что константная цепь $TCR\delta$ из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\gamma\delta$ TFP, или $\gamma\delta$ TCR) полностью или частично кодируется по меньшей мере одним из экзонов эндогенного гена константной цепи $TCR\delta$. В одном воплощении SAR нацелен на эндогенный локус гена $TCR\delta$ (TRGC), так что константная цепь $TCR\delta$ из SAR (т.е. SAR с каркасом SIR, cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, $\gamma\delta$ TFP, или $\gamma\delta$ TCR) полностью или частично разделяет 3'-нетранслируемую область и последовательность полиаденилирования нативного/эндогенного гена константной цепи $TCR\delta$.

В раскрытии также предлагаются композиции и способы нацеливания биспецифичных и мультиспецифичных SAR на локусы TRAC и/или TRBC с целью получения аллогенных SAR-T-клеток.

В одном воплощении клетка представляет собой стволовую клетку, и стволовая клетка дефицитна по одной или нескольким цепям эндогенных T-клеточных рецепторов. В другом воплощении клетка представляет собой стволовую клетку, в которой один или

несколько антигенов-мишеней (например, MPL, CD33, CD123, CD19 и т.п.) SAR были deletированы или мутированы в форму, которая больше не распознается SAR. Например, SAR, нацеленный на CD19, экспрессируется в стволовых клетках, которые были дефицитными по CD19 с помощью CRISP/Cas9 или нуклеаз с «цинковыми пальцами», так что В-клетки, продуцируемые такими стволовыми клетками, не элиминируются Т-клетками, экспрессирующими SAR, нацеленные на CD19. Альтернативно, SAR, нацеленный на CD19, экспрессируется в стволовых клетках, в которых эндогенный CD19 был мутирован в форму, не являющуюся мишенью для SAR с применением CRISP/Cas9 или нуклеаз с «цинковыми пальцами», так что В-клетки, продуцируемые такими стволовыми клетками, не удаляются с помощью Т-клеток, экспрессирующих SAR, нацеленный на CD19. В другом воплощении SAR экспрессируется в иммунных эффекторных клетках, а стволовые клетки аутологичного или аллогенного донора генетически сконструированы таким образом, чтобы либо не экспрессировать антиген-мишень SAR, либо экспрессировать мутированную форму антигена-мишени SAR, которая не распознается SAR. Например, SAR, нацеленный на CD19, экспрессируется в Т-клетках, которые вводят пациенту вместе с аутологичными или аллогенными гемопоэтическими стволовыми клетками, которые делают дефицитными по CD19 с помощью CRISP/Cas9 или нуклеаз с «цинковыми пальцами», так что В-клетки, продуцируемые такими стволовыми клетками, не элиминируются Т-клетками, экспрессирующими SAR, нацеленный на CD19. Альтернативно, SAR, нацеленный на CD19, экспрессируется в Т-клетках, которые вводят пациенту вместе с аутологичными или аллогенными гемопоэтическими стволовыми клетками, в которых эндогенный CD19 был мутирован в форму, не являющуюся мишенью для SAR, с применением CRISP/Cas9 или нуклеаз с «цинковыми пальцами», так что В-клетки, продуцируемые такими стволовыми клетками, не элиминируются Т-клетками, экспрессирующими SAR, нацеленный на CD19. Аналогичный подход можно использовать для мутации или элиминации других эндогенных антигенов (например, MPL, CD33, CD123 и т.п.) в стволовых клетках с применением кшРНК, CRISP/Cas9 или нуклеаз с «цинковыми пальцами» у субъектов, получающих SAR-Т-клетки, нацеленные на эти антигены для лечения специфичных заболеваний, при которых эти антигены экспрессируются на ассоциированных с заболеванием или вызывающих заболевание клетках.

Т-клетки или натуральные киллеры (NK) или стволовые клетки могут быть получены из субъекта. Предполагается, что термин «субъект» включает живые организмы, у которых можно вызвать иммунный ответ (например, млекопитающие). Примеры субъектов включают людей, обезьян, шимпанзе, собак, кошек, мышей, крыс и

их трансгенные виды. Т-клетки могут быть получены из ряда источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань из очага инфекции, асцит, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли. Т-клетки могут представлять собой резидентные в ткани гамма-дельта Т-клетки, которые можно культивировать и размножить *in vitro* перед экспрессией SAR.

В другом аспекте раскрытие относится к способу получения генетически модифицированной клетки или клеточной популяции, включающему экспрессию в указанной клетке или клеточной популяции конструкции нуклеиновой кислоты SAR по изобретению. Способ может включать введение в клетку нуклеиновой кислоты, как описано в настоящей заявке (например, РНК, транскрибированной *in vitro*, или синтетической РНК; последовательности мРНК, кодирующей полипептид SAR, как описано в настоящей заявке). В воплощениях РНК временно экспрессирует полипептид SAR. В одном воплощении клетка представляет собой клетку, как описано в настоящей заявке, например, иммунную эффекторную клетку (например, Т-клетки или НК-клетки, или клеточную популяцию). Клетки, полученные такими способами, также входят в объем изобретения.

В другом аспекте раскрытие относится к способу *ex vivo* создания популяции клеток для применения в адаптивной иммунотерапии, включающему трансформацию указанной клетки с помощью SAR по изобретению.

В некоторых аспектах изобретения иммунные эффекторные клетки, например, Т-клетки, могут быть получены из единицы крови, взятой у субъекта, с применением любого количества методов, известных специалистам в данной области, таких как выделение с помощью Ficoll™. В одном предпочтительном аспекте клетки из циркулирующей крови индивидуума получают путем афереза. В одном аспекте клетки собирают у субъекта, у которого Т-клетки были мобилизованы введением агента. В некоторых воплощениях иммунные клетки берут у донора, которому вводили антагонист CXCR4 (например, плериксафор), цитокин (например, G-CSF, GM-CSF или сарграмостим, нейласта или пегфилгастрим), агонист бета2 (например, адреналин), ингибитор тирозинкиназы (например, дазатиниб), химиотерапевтическое(ие) лекарственное(ые) средство(а) (например, циклофосфамид, доксорубицин и т.п.) по отдельности или в комбинации перед сбором иммунных клеток. В некоторых воплощениях донор представляет собой аутологичный донор, в то время как в других воплощениях донор представляет собой аллогенный донор.

Продукт для афереза обычно включает лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты,

гранулоциты, В-клетки, другие ядродержащие лейкоциты, эритроциты и тромбоциты. В одном аспекте клетки, собранные с помощью афереза, можно промыть для удаления фракции плазмы и, необязательно, поместить клетки в соответствующий буфер или среду для последующих стадий обработки. В одном воплощении клетки промывают фосфатно-солевым буфером (PBS). В альтернативном воплощении в промывочном растворе отсутствует кальций, и может отсутствовать магний, или может не хватать многих, если не всех двухвалентных катионов.

Считается, что способы применения могут использовать условия культуральной среды, содержащие 5% или менее, например, 2%, сыворотки АВ человека, и использовать известные условия и композиции культуральной среды, например те, которые описаны в Smith et al., «Ex vivo expansion of human T cells for adoptive immunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement» *Clinical & Translational Immunology* (2015) 4, e31; doi: 10.1038/cti.2014.31.

В одном аспекте Т-клетки выделяют из лимфоцитов периферической крови путем лизиса эритроцитов и истощения моноцитов, например, с помощью противоточной центробежной элютиации или центрифугирования в градиенте PERCOLL™.

В другом воплощении SAR-экспрессирующая эффекторная клетка, описанная в настоящей заявке, может дополнительно экспрессировать агент, который усиливает активность SAR-экспрессирующей клетки. В некоторых воплощениях агент представляет собой агент, который ингибирует ингибирующую молекулу. Неограничивающие примеры ингибирующих молекул включают PD-1, PD-L1, CTLA-4, TIM-3, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), LAG-3, VISTA, BTLA., TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 и TGFR бета. В одном воплощении средство, которое ингибирует ингибирующую молекулу, содержит первый полипептид, например, scFv или VHH, или рецептор, или фрагмент лиганда, который связывает ингибирующую молекулу, связанную со вторым полипептидом, который дает положительный сигнал клетке, например, внутриклеточный сигнальный домен, такой как 41BB, CD27, OX40, CD28, Dap10, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR-1, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 или их комбинации), и /или первичный сигнальный домен (например, сигнальный домен CD3-дзета). В одном воплощении средство, которое ингибирует ингибирующую молекулу, содержит первый полипептид, например, фрагмент scFv или VHH, или рецептор, или фрагмент лиганда, который связывает ингибирующую молекулу, связанную с константной цепью Т-клеточного рецептора, описанной в настоящей заявке (например, константной цепью TCR α , TCR β 1, TCR β 2, пре-TCR α , пре-TCR α -Del48, TCR-гамма или TCR-дельта).

В другом воплощении SAR-экспрессирующая клетка, описанная в настоящей

заявке, может дополнительно экспрессировать дополнительный модуль, например, агент, который усиливает активность SAR-экспрессирующей клетки. Несколько примеров дополнительных модулей, содержащих агенты, которые могут усиливать активность клеток, экспрессирующих SAR, представлены SEQ ID NO: 11998-12019 (таблица 24). Например, в одном воплощении агент может представлять собой агент, который увеличивает экспрессию и/или активность цепей SAR (например, CD3 ζ , CD3 δ , CD3 ϵ , CD3 γ или их комбинацию). В другом воплощении агент может представлять собой агент (например, vFLIP K13, vFLIP MC159, cFLIP-L, cFLIP-p22, HTLV1 Tax, HTLV2 Tax, 41BB или CD28), который обеспечивает костимулирующий сигнал клеткам, экспрессирующим SAR. В другом воплощении агент может представлять собой агент (например, FKBPx2-K13, FKBPx2-MC159, FKBPx2-cFLIP, FKBPx2-cFLIP-L, FKBPx2-cFLIP-p22, FKBPx2-HTLV1 Tax, FKBPx2-HTLV2 Tax, FKBPx2-41BB или FKBPx2-CD28, M μ g-MYD88-CD40-Fv'-Fv и т.п.), который обеспечивает костимулирующий сигнал клеткам, экспрессирующим SAR, индуцируемым образом. В другом воплощении агент может представлять собой цитокин или хемокин (например, CD40L, IL2, IL-7, IL-15, IL12f или IL-21), который способствует пролиферации или стойкости SAR-экспрессирующих клеток. В другом воплощении агент может представлять собой растворимый рецептор (например, sHVEM или sHVEM-Alb8-vHH), который способствует активности клеток, экспрессирующих SAR, и/или действует синергически с клетками, экспрессирующими SAR. В другом воплощении агент может представлять собой агент, который ингибирует ингибирующую молекулу. Ингибирующие молекулы, например, PD1, в некоторых воплощениях могут снижать способность экспрессирующих SAR клеток вызывать иммунный эффекторный ответ. В другом воплощении агент может представлять собой scFv, нацеленный на PD1 или CTLA4. В одном воплощении агент содержит первый полипептид, например, ингибиторной молекулы, такой как PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 или TGFR бета, или фрагмент любого из них (например, по меньшей мере часть внеклеточного домена любого из них), и второй полипептид, который представляет собой внутриклеточный сигнальный домен, описанный в настоящей заявке (например, содержащий костимулирующий домен (например, 41BB, CD27 или CD28, например, как описано в настоящей заявке) и/или первичный сигнальный домен (например, сигнальный домен CD3-дзета, описанный в настоящей заявке)). В одном воплощении агент содержит первый полипептид PD1 или его фрагмент (например, по меньшей мере часть внеклеточного домена PD1) и второй полипептид внутриклеточного сигнального домена, описанного в настоящей заявке (например, сигнальный домен CD28,

описанный в настоящей заявке и/или сигнальный домен CD3-дзета, описанный в настоящей заявке).

В некоторых воплощениях иммунные клетки сконструированы таким образом, чтобы они были устойчивыми к одному или нескольким химиотерапевтическим лекарственным средствам. Химиотерапевтическим лекарственным средством может быть, например, аналог пуриновых нуклеотидов (англ. PNA, purine nucleotide analogue), что делает иммунную клетку пригодной для лечения онкологического заболевания, сочетающего адоптивную иммунотерапию и химиотерапию. Примеры PNA включают, например, клофарабин, флударабин, циклофосфамид и цитарабин, отдельно или в комбинации. PNA метаболизируются дезоксицитидинкиназой (dCK) в моно-, ди- и трифосфат PNA. Их трифосфатные формы конкурируют с АТФ за синтез ДНК, действуют как проапоптотические агенты и являются мощными ингибиторами рибонуклеотидредуктазы (RNR), которая участвует в продуцировании тринуклеотидов. В настоящем документе предусмотрены SAR-T-клетки, содержащие разрушенный или инактивированный ген dCK. В некоторых воплощениях нокаутные клетки dCK получают путем трансфекции T-клеток с применением полинуклеотидов, кодирующих специфическую TAL-нуклеазу, направленную против генов dCK, например, путем электропорации мРНК. SAR-T-клетки, нокаутированные по dCK, могут быть устойчивыми к PNA, включая, например, хлорофарабин и/или флударабин, и сохранять цитотоксическую активность T-клеток по отношению к клеткам, экспрессирующим антиген(ы) SAR.

В одном воплощении SAR-экспрессирующая эффекторная клетка, описанная в настоящей заявке, может дополнительно содержать второй SAR, который может включать другой антигенсвязывающий домен для той же или другой мишени. В некоторых воплощениях второй SAR может быть нацелен на тот же или другой тип клетки, что и первый SAR.

В одном воплощении SAR-экспрессирующая эффекторная клетка, описанная в настоящей заявке, может дополнительно содержать второй SAR с таким же или другим антигенсвязывающим доменом, необязательно такой же или другой мишенью. В некоторых воплощениях второй SAR может быть нацелен на тот же или другой тип клетки, что и первый SAR. Два SAR могут иметь одинаковые или разные каркасы. В примерном воплощении два SAR могут иметь каркас CAR 2-го поколения. В другом примерном воплощении один SAR может иметь каркас SIR, тогда как второй SAR может иметь каркас TFPε. В другом примерном воплощении один SAR может иметь каркас Ab-TCR, тогда как второй SAR может иметь каркас SIR. Нуклеотидные и аминокислотные

последовательности нескольких примерных SAR на разных каркасах представлены в таблицах 35 и 36. В одном воплощении SAR включает антигенсвязывающий домен мишени, экспрессируемый на клетках того же типа заболевания (например, рака), что и антиген, ассоциированный с заболеванием. В другом воплощении клетка, экспрессирующая SAR, содержит первый SAR, который нацелен на первый антиген, и второй SAR, который нацелен на второй, отличный от антигена, и включает внутриклеточный сигнальный домен, не имеющий первичного сигнального домена, но имеющий костимулирующий сигнальный домен. Не желая быть связанными теорией, полагаем, что размещение костимулирующего сигнального домена, например, 4-1BB, CD28, CD27 или OX-40, на SAR (например, CAR 2-го поколения) может модулировать активность SAR в клетках, в которых экспрессируются обе мишени. В одном воплощении клетка, экспрессирующая SAR, содержит i) первый SAR антигена, ассоциированного с заболеванием (например, SIR), который включает один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые связывают антиген-мишень, описанный в настоящей заявке, и одну или две константные цепи TCR, и ii) CAR 2-го поколения или TFR ϵ , который нацелен на другой антиген-мишень (например, антиген, экспрессируемый на том же типе клеток, ассоциированных с заболеванием (например, раком), что и первый антиген-мишень) и включает антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и первичный сигнальный домен и костимулирующий домен. В другом воплощении клетка, экспрессирующая SAR, содержит a i) первый SAR (например, SIR), который включает антигенсвязывающий домен, который связывает антиген-мишень, описанный в настоящей заявке, и одну или две константные цепи TCR, и ii) CAR, который нацелен на антиген, отличный от первого антигена-мишени (например, антиген, экспрессируемый на том же типе раковых клеток, что и первый антиген-мишень), и включает антигенсвязывающий домен, специфичный к антигену, трансмембранный домен и костимулирующий сигнальный домен. В этой конструкции CAR отсутствует домен CD3z. В еще одном воплощении клетка, экспрессирующая SAR, содержит i) первый SAR антигена, ассоциированного с заболеванием (например, SIR или Ab-TCR), который включает один или несколько антигенсвязывающих доменов, которые связывают антиген-мишень, описанный в настоящей заявке, и одну или две константные цепи TCR, и ii) CAR, который нацелен на другой антиген-мишень (например, антиген, экспрессируемый на том же типе клеток, ассоциированных с заболеванием (например, раком), что и первый антиген-мишень) и включает антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и первичный сигнальный домен, но без костимулирующего домена.

В одном воплощении CAR содержит антигенсвязывающий домен,

трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен (например, без ограничения указанным, один или несколько внутриклеточных сигнальных доменов из 41BB, CD27, OX40, CD28, Dap10, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR-1, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 или их комбинации) и/или первичный сигнальный домен (такой как, без ограничения указанным, сигнальный домен CD3-дзета).

В одном воплощении SAR-экспрессирующая эффекторная клетка содержит SAR, описанный в настоящей заявке, и ингибирующий CAR. В одном воплощении ингибирующий CAR содержит антигенсвязывающий домен, который связывает антиген, присутствующий в нормальных клетках, но не в раковых клетках. В одном воплощении ингибирующий CAR содержит антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен ингибиторной молекулы. Например, внутриклеточный домен ингибиторного CAR может быть внутриклеточным доменом любого из числа PD1, PD-L1, CTLA-4, TIM-3, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 или TGFR бета. Примерный полипептид SAR, коэкспрессирующий ингибирующий CAR, представлен в SEQ ID NO: 3220. Ингибирующий CAR в этом полипептиде экспрессирует vHH, нацеленный на CXCR4, объединенный с трансмембранным доменом и цитозольным доменом LAIR1.

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен первой молекулы SAR (например, CAR) содержит scFv, а антигенсвязывающий домен второй молекулы SAR (например, SIR, Ab-TCR или TFP) не содержит scFv. Например, антигенсвязывающий домен первой молекулы SAR содержит scFv, а антигенсвязывающий домен второй молекулы SAR содержит домен VHH верблюдовых.

В одном воплощении в раскрытии предлагается иммунная эффекторная клетка (например, Т-клетка, NK-клетка), экспрессирующая SAR, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с опухолевым антигеном, как описано в настоящей заявке, и CAR, содержащий внеклеточный домен PD 1 или его фрагмент. В некоторых воплощениях клетка дополнительно содержит ингибирующую молекулу, содержащую цитоплазматический домен inhKIR; трансмембранный домен, например, трансмембранный домен KIR; и ингибирующий цитоплазматический домен, например, домен ITIM, например, домен ITIM inhKIR.

Клетки, которые экспрессируют SAR раскрытия, используют для лечения заболевания.

Таким образом, раскрытие относится к способам профилактики и/или лечения рака, включающим введение субъекту клетки или клеточной популяции, содержащей SAR, как описано в настоящей заявке, причем указанный способ включает введение субъекту,

нуждающемуся в этом, фармацевтически активного количества клетки и/или фармацевтической композиции по изобретению.

Раскрытие также относится к SAR, клетке или клеточной популяции, содержащей SAR, как описано в настоящей заявке, для применения в терапии. Раскрытие также относится к SAR или клетке, содержащей SAR, как описано в настоящей заявке, для применения при лечении рака. Раскрытие также относится к применению SAR или клетки, содержащей SAR, как описано в настоящей заявке, в производстве лекарственного средства для лечения рака.

В другом аспекте раскрытие относится к способу стимуляции опосредованного Т-клетками иммунного ответа на популяцию клеток-мишеней или ткань у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества клеток или популяции клеток, которые экспрессируют SAR. изобретения, где антигенсвязывающий домен выбран так, чтобы специфически распознавать популяцию клеток-мишеней или ткань.

В другом аспекте раскрытие относится к способу обеспечения противоопухолевого иммунитета у субъекта, способу, включающему введение млекопитающему эффективного количества клетки или клеточной популяции, генетически модифицированной для экспрессии SAR по изобретению, тем самым обеспечивая противоопухолевый иммунитет у субъекта.

В описании также предложен способ, включающий введение субъекту молекулы SAR, клетки, экспрессирующей молекулу SAR, или клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу SAR. В одном воплощении у субъекта имеется нарушение, описанное в настоящей заявке, например, у субъекта имеется рак, инфекционное заболевание, аллергическое заболевание, дегенеративное заболевание или аутоиммунное заболевание, при котором экспрессируется антиген-мишень, описанный в настоящей заявке. В еще одном воплощении субъект имеет повышенный риск заболевания, описанного в настоящей заявке, например, субъект имеет повышенный риск развития рака, инфекционного заболевания, аллергического заболевания, дегенеративного заболевания или аутоиммунного заболевания, которое экспрессирует антиген-мишень, описанный в настоящей заявке. В одном воплощении субъектом является человек. В другом воплощении субъект представляет собой животное. В еще одном воплощении субъектом является домашнее животное, такое как собака.

В одном воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии целевого X -SIR, где

X представляет собой антиген, ассоциированный с заболеванием, как описано в настоящей заявке, и где клетки, вызывающие заболевание, или клетки, ассоциированные с заболеванием, экспрессируют указанный антиген X. В таблице 45 представлен список различных антигенов и типовых заболеваний, которые можно предотвратить, ингибировать или лечить с помощью иммунных эффекторных клеток, экспрессирующих SAR, нацеленные на эти антигены.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики рака путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток), которые сконструированы для экспрессии XSAR (или X-SAR), описанного в настоящей заявке, где раковые клетки экспрессируют антиген-мишень «X». В одном воплощении X экспрессируется как на нормальных клетках, так и на раковых клетках, но на более низких уровнях экспрессируется на нормальных клетках. В одном воплощении способ дополнительно включает выбор SAR, который связывает X с аффинностью, которая позволяет XSAR связывать и убивать раковые клетки, экспрессирующие X, но менее 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или меньше нормальных клеток, экспрессирующих X, погибают, например, как определено с помощью анализа, описанного в настоящей заявке. Например, анализ цитотоксичности высвобождения Gluc, описанный в настоящей заявке, можно использовать для идентификации XSAR, нацеленных, например, на раковые клетки. В одном воплощении выбранный SAR имеет антигенсвязывающий домен, который имеет KD аффинности связывания антигена-мишени примерно от 10^{-4} М до 10^{-8} М, чаще примерно от 10^{-5} М до 10^{-7} М и обычно примерно 10^{-6} М или 10^{-7} М. В одном воплощении выбранный антигенсвязывающий домен имеет аффинность связывания, которая по меньшей мере в два, пять, 10, 20, 30, 50, 100 или 1000 раз меньше, чем к референсного антитела, например, антитела, описанного в настоящей заявке, и из которого получен связывающий домен SAR.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики рака путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток), которые сконструированы для экспрессии биспецифичного SAR (или AxB-SAR), описанного в настоящей заявке, где А и В представляют собой два разных антигена, на которые нацелен SAR. В примерном воплощении антиген А представляет собой CD19, а антиген В представляет собой CD22, а заболевание представляет собой В-клеточную лимфому или лейкоз. В примерном воплощении антиген А представляет собой CD19, а антиген В представляет собой CD20, а заболевание представляет собой В-клеточную лимфому или лейкоз. В примерном воплощении антиген А представляет собой CD19, а антиген В представляет собой ВСМА, а заболевание

представляет собой В-клеточную лимфому или лейкоз. В примерном воплощении антиген А представляет собой CD19, а антиген В представляет собой CD38, а заболевание представляет собой В-клеточную лимфому или лейкоз. В примерном воплощении антиген А представляет собой ВСМА, а антиген В представляет собой CD38, а заболевание представляет собой заболевание плазматических клеток или первичную выпотную лимфому (ПВЛ). В примерном воплощении антиген А представляет собой ВСМА, а антиген В представляет собой CS1/SLAMF7, а заболевание представляет собой заболевание плазматических клеток или первичную выпотную лимфому (ПВЛ). В примерном воплощении антиген А представляет собой CD123, а антиген В представляет собой MPL, а заболевание представляет собой острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, миелопролиферативное заболевание или миелофиброз. В примерном воплощении антиген А представляет собой CD123, а антиген В представляет собой CD33, и заболевание представляет собой острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз или миелопролиферативное заболевание.

В примерном воплощении оба антигена А и В экспрессируются на клетках крови. В одном воплощении один антиген экспрессируется предпочтительно или исключительно на клетках линии крови (например, нормальных В-клетках или клетках лимфомы), в то время как другой антиген экспрессируется преимущественно или исключительно на клетках, не относящихся к крови (например, клетках рака предстательной железы). В другом воплощении один антиген экспрессируется предпочтительно или исключительно на нормальных клетках линии крови (например, нормальных В-клетках), в то время как другой антиген экспрессируется преимущественно или исключительно на опухолевых клетках (например, клетках рака предстательной железы). В примерном воплощении антиген А представляет собой CD19, а антиген В представляет собой PSMA, а заболевание представляет собой рак предстательной железы. В такой конструкции нацеливание на CD19 обеспечивает пролиферативный сигнал клеткам SAR путем направленного воздействия на CD19, экспрессируемого на нормальных В-клетках, в то время как направленное воздействие на PSMA индуцирует уничтожение клеток рака предстательной железы. В другом примерном воплощении антиген А представляет собой CD20, а антиген В представляет собой PSMA, а заболевание представляет собой рак предстательной железы. В другом примерном воплощении антиген А представляет собой ВСМА, а антиген В представляет собой PSMA, а заболевание представляет собой рак предстательной железы. Другие примеры антигенов, которые предпочтительно экспрессируются на опухолевых клетках (например, солидных опухолевых клетках), известны в данной области, и включают, без ограничения указанным: Her2, Her3,

мезотелин, CEACAM5, EGFR, EGFRviii, IL13Ra2, TAJ, ROR1, CD70, DLL3, Muc16, Muc1, GD2, GD3, CDH6, CDH17, EpCAM, LiCAM, фолатный рецептор 1, GCC, NY-ESO, AFP, MAGE и WT1.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т- или НК-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии биспецифичного CD19xC20 SAR, где клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют CD19 и CD20. В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой онкологическое или иммунное заболевание. В одном воплощении онкологическое заболевание, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой острый В-клеточный лейкоз, хронический В-клеточный лейкоз или В-клеточную лимфому.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т- или НК-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии биспецифичного CD19xC20 SAR, где клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют CD19 и CD20. В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или иммунное заболевание. В одном воплощении рак, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой острый В-клеточный лейкоз, хронический В-клеточный лейкоз или В-клеточную лимфому.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии триспецифичного CD19xC22xCD20 SAR, где клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют CD19, CD22 и CD20. В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или иммунное заболевание. В одном воплощении рак, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой острый В-клеточный лейкоз, хронический В-клеточный лейкоз или В-клеточную лимфому.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных

эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии биспецифичного ВСМАхCD38 SAR, где клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют ВСМА и CD38. В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или иммунное заболевание. В другом воплощении рак, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой заболевание плазматических клеток (например, лейкоз плазматических клеток, миелому).

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии TCRB1-SAR, при этом клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют TCRB1 (цепь бета1 Т-клеточного рецептора). В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или иммунное заболевание. В другом воплощении рак, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой Т-клеточный лейкоз или Т-клеточную лимфому. В другом воплощении иммунное расстройство, подлежащее лечению или профилактике, представляет собой рассеянный склероз, ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилоартрит, воспалительное заболевание кишечника, сахарный диабет, болезнь «трансплантат против хозяина» или аутоиммунный тиреоидит.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии TCRB2-SIR, при этом клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют TCRB2 (Т-клеточный рецептор Beta2 SAR). В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или иммунное нарушение. В другом воплощении рак, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой Т-клеточный лейкоз или Т-клеточную лимфому. В другом воплощении иммунное расстройство, подлежащее лечению или профилактике, представляет собой рассеянный склероз, ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилоартрит, воспалительное заболевание кишечника, сахарный диабет, болезнь «трансплантат против хозяина» или аутоиммунный тиреоидит.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики

заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии Т-клеточного рецептора гамма-дельта-SIR, где клетки, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием, экспрессируют Т-клеточный рецептор гамма-дельта. В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой рак или иммунное нарушение. В одном воплощении рак, подлежащий лечению или профилактике, представляет собой Т-клеточный лейкоз или Т-клеточную лимфому. В одном воплощении иммунное расстройство, подлежащее лечению или профилактике, представляет собой рассеянный склероз, ревматоидный артрит, анкилозирующий спондилоартрит, воспалительное заболевание кишечника, сахарный диабет, болезнь «трансплантат против хозяина» или аутоиммунный тиреоидит.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии SAR, кодирующего CD4-DC-SIGN. В одном воплощении заболевание, которое необходимо лечить или предотвращать, представляет собой HIV-1/СПИД.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики аутоиммунных заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии SAR, кодирующего аутоантиген или его фрагмент. В одном воплощении аутоиммунное заболевание представляет собой сахарный диабет, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, вульгарную пузырчатку, паранеопластическую пузырчатку, гломерулонефрит, анкилозирующий спондилит, язвенный колит или болезнь Крона. В одном аспекте заболевание представляет собой вульгарную пузырчатку, и антигенсвязывающий домен SAR включает внеклеточный домен десмоглеина 3 (Dsg3)

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии универсального SAR, кодирующего CD16 или его делеционный фрагмент или фрагмент с точечной мутацией

вместе с антителом или фрагментом антитела, который связывается с доменом CD16 SAR, и антигеном, экспрессируемым на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии универсального SAR, кодирующего рецептор связывания иммуноглобулина или его делеционный фрагмент или фрагмент с точечной мутацией. Иммунные эффекторные клетки, экспрессирующие SAR, вводят пациенту вместе с одним или несколькими антителами или фрагментами антител, которые связываются с иммуноглобулин-связывающим доменом рецептора SAR, и с одним или несколькими антигенами, экспрессируемыми на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии как универсального SAR, кодирующего иммуноглобулин-связывающий рецептор, или его делеционный фрагмент или фрагмент с точечной мутацией, присоединенный к константной цепи Т-клеточного рецептора (например, константной цепи TCR α), так и антигенсвязывающего домена (например, scFv, vHH, vL, vH или неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий домен), соединенный с константной цепью Т-клеточного рецептора (например, константной цепью TCR β). Иммунные эффекторные клетки, экспрессирующие SAR, вводят пациенту вместе с одним или несколькими антителами или фрагментами антител, которые связываются с иммуноглобулин-связывающим доменом первого рецептора SAR с одним или несколькими антигенами, экспрессируемыми на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или

профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии универсального SAR, кодирующего рецептор иммуноглобулина или его делеционный фрагмент или фрагмент с точечной мутацией вместе с одним или несколькими антителами или фрагментами антител, которые связываются с указанным выше рецептором, и одним или несколькими антигенами, экспрессируемыми на ассоциированных с заболеванием клетках.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии как универсального SAR, кодирующего CD16, так и его делеционного мутанта или мутанта с точечной мутацией (например, мутанта V158), соединенного с константной цепью Т-клеточного рецептора, и SAR, кодирующего антигенсвязывающий домен (например, scFv, vHH, vL, vH или неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий домен), соединенный с константной цепью Т-клеточного рецептора. Иммунные эффекторные клетки, экспрессирующие SAR, вводят пациенту вместе с одним или несколькими антителами или фрагментами антител, которые связываются с доменом CD16 SAR, и одним или несколькими антигенами, экспрессируемыми на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии универсального SAR, кодирующего CD16 или его делеционный фрагмент или фрагмент с точечной мутацией (например, мутант V158) вместе с одним или несколькими антителами или фрагментами антител, которые связываются с доменом CD16 из SAR, и одним или несколькими антигенами, экспрессируемыми на клетки, ассоциированные с болезнью. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или

профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток), которые сконструированы таким образом, чтобы экспрессировать SAR, кодирующий рецептор NKG2D, или его делеционный фрагмент или фрагмент с точечной мутацией. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, сконструированные для экспрессии CD19SAR. В одном аспекте заболевание представляет собой иммунное или аллергическое заболевание.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток), сконструированных для экспрессии CD20SAR. В одном аспекте заболевание представляет собой иммунное или аллергическое заболевание.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления нуждающемуся в этом субъекту иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток), сконструированных для экспрессии CD22SAR. В одном аспекте заболевание представляет собой иммунное или аллергическое заболевание.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторные клетки, которые сконструированы для экспрессии FITC-SIR вместе с FITC-меченым антителом или фрагментом антитела, или фрагментом антитела, или рецептором, или лигандом, или неиммуноглобулиновым каркасом, который связывается с антигеном, экспрессируемым на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку, или В-клетку, или Т-клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток

(например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторныe клетки, которые сконструированы для экспрессии авидин-SAR вместе с меченым биотином антителом или фрагментом антитела, или фрагментом антитела, или рецептором, или лигандом, или неиммуноглобулиновым каркасом, который связывается с антигеном, экспрессируемым на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку.

В другом воплощении в раскрытии предлагаются способы лечения или профилактики рака, инфекционных, аутоиммунных или аллергических заболеваний путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток) или стволовых клеток, которые могут давать иммунные эффекторныe клетки, которые сконструированы для экспрессии Strep-метки-SAR вместе с антителом или фрагментом антитела, содержащим Strep-метку, или рецептором, или лигандом, или неиммуноглобулиновым каркасом, который связывается с антигеном, экспрессируемым на ассоциированных с заболеванием клетках. В одном аспекте клетка, ассоциированная с заболеванием, представляет собой раковую клетку, инфицированную клетку или плазматическую клетку.

В другом воплощении раскрытие относится к способам лечения или профилактики заболевания путем предоставления субъекту, нуждающемуся в этом, иммунных эффекторных клеток (например, Т-клеток), которые сконструированы для экспрессии IgE-SAR, антигенсвязывающий домен которого содержит антитело или фрагмент антитела, который связывается с IgE. В одном аспекте заболевание представляет собой иммунное или аллергическое заболевание.

В другом воплощении раскрытие относится к лечению субъекта *in vivo* с применением PD1SAR (т.е. SAR, содержащего внеклеточный домен PD1 в качестве его антигенсвязывающего домена), таким образом, что рост раковых опухолей подавляется. PD1SAR можно использовать отдельно для ингибирования роста раковых опухолей.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая SAR или выделенную клетку, или клеточную популяцию, содержащую SAR в соответствии с настоящим изобретением и необязательно фармацевтически приемлемый носитель.

Генетически модифицированные клетки или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить любым удобным способом, включая парентеральное введение. Парентеральное введение включает, например, внутривенное, внутримышечное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, интраназальное, ректальное,

внутрипузырное, внутрикожное, местное или подкожное введение. Композиции могут иметь форму одной или нескольких дозированных единиц.

Композиция по настоящему изобретению может быть в форме жидкости, например, раствора, эмульсии или суспензии. Жидкость может быть полезна для доставки путем инъекции, инфузии (например, внутривенной инфузии) или подкожно. Жидкие композиции по изобретению, независимо от того, являются ли они растворами, суспензиями или другими подобными формами, могут также включать один или несколько из следующих компонентов: стерильные разбавители, такие как вода, физиологический раствор, обычно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, полиэтиленгликоли, глицерин или другие растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Композиция может быть заключена в ампулу, одноразовый шприц или многодозовый флакон из стекла, пластика или другого материала.

Количество фармацевтической композиции по настоящему изобретению, которое является эффективным/активным при лечении конкретного расстройства или состояния, будет зависеть от характера расстройства или состояния и может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, необязательно можно использовать анализы *in vitro* или *in vivo*, чтобы помочь определить оптимальные диапазоны дозировок. Точная доза, которую следует использовать в композициях, также будет зависеть от пути введения и серьезности заболевания или расстройства и должна определяться в соответствии с мнением лечащего врача и обстоятельствами каждого пациента.

Композиции по настоящему изобретению содержат эффективное количество связывающей молекулы по настоящему изобретению, так что будет получена подходящая дозировка. Правильная дозировка соединений будет варьироваться в зависимости от конкретного состава, способа применения и конкретного места, хозяина и заболевания, которое лечат. Следует принимать во внимание и другие факторы, такие как возраст, масса тела, пол, диета, время введения, скорость выведения, состояние хозяина, комбинации лекарственных средств, чувствительность реакции и тяжесть заболевания. Введение можно осуществлять непрерывно или периодически в пределах максимально переносимой дозы.

Как правило, это количество составляет по меньшей мере около 0,01% молекулы связывания по настоящему изобретению по массе композиции.

Предпочтительные композиции по настоящему изобретению готовят таким

образом, чтобы стандартная дозировка для парентерального введения содержала от около 0,01% до около 2% по массе связывающей молекулы по настоящему изобретению.

Для внутривенного введения композиция обычно может содержать примерно от около 0,1 мг/кг до около 250 мг/кг массы тела животного, предпочтительно от около 0,1 мг/кг до около 20 мг/кг массы тела животного, а более обычно от около 1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела животного.

Настоящие композиции могут иметь форму подходящих носителей, таких как аэрозоли, спреи, суспензии или любую другую форму, подходящую для применения. Другие примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в «Remington's Pharmaceutical Sciences» E.W. Martin.

Фармацевтические композиции могут быть приготовлены с применением методологии, хорошо известной в области фармацевтики. Например, композиция, предназначенная для введения путем инъекции, может быть приготовлена путем объединения связывающей молекулы по настоящему изобретению с водой с образованием раствора. Поверхностно-активное вещество может быть добавлено для облегчения образования гомогенного раствора или суспензии.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить совместно с другими терапевтическими средствами, например противораковыми средствами.

В одном воплощении рак выбран из гемобластоза, или злокачественного новообразования, или солидной опухоли. Гемобластозы — это рак крови или костного мозга. Сolidные опухоли представляют собой аномальные массы ткани, которые обычно не содержат кист или жидких участков.

В одном воплощении злокачественная опухоль является метастатической.

Рак, которые можно лечить способами, применениями и композициями, описанными в настоящей заявке, включают, без ограничения указанным, раковые клетки из мочевого пузыря, крови, кости, костного мозга, головного мозга, молочной железы, ободочной кишки, пищевода, желудочно-кишечного тракта, десен, головы, почки, печени, легкого, носоглотки, шеи, яичника, предстательной железы, кожи, желудка, яичка, языка или матки. Кроме того, рак может конкретно относиться к следующему гистологическому типу, без ограничения указанным: новообразование, злокачественное; карцинома; карцинома недифференцированная; гигантская и веретенчатая карцинома; мелкоклеточная карцинома; папиллярная карцинома; плоскоклеточная карцинома; лимфоэпителиальная карцинома; базально-клеточная карцинома; пиломатричная карцинома; переходно-клеточная карцинома; папиллярная переходно-клеточная

карцинома; аденокарцинома; гастринома злокачественная; холангиокарцинома; гепатоцеллюлярная карцинома; плоскоклеточная карцинома; лимфоэпителиальная карцинома; базально-клеточная карцинома; пиломатричная карцинома; переходноклеточная карцинома; папиллярная переходно-клеточная карцинома; аденокарцинома; гастринома злокачественная; холангиокарцинома; гепатоцеллюлярная карцинома; комбинированная гепатоцеллюлярная карцинома и холангиокарцинома; трабекулярная аденокарцинома; аденоидно-кистозная карцинома; аденокарцинома в аденоматозном полипе; аденокарцинома, семейный полипоз толстой кишки; твердая карцинома; карциноидная опухоль, злокачественная; бронхиоло-альвеолярная аденокарцинома; папиллярная аденокарцинома; хромофобная карцинома; ацидофильная карцинома; оксифильная аденокарцинома; базофильная карцинома; светлоклеточная аденокарцинома; зернистоклеточная карцинома; фолликулярная аденокарцинома; папиллярная и фолликулярная аденокарцинома; неинкапсулирующая склерозирующая карцинома; карцинома коры надпочечников; эндометроидная карцинома; карцинома придатков кожи; апокрिनковая аденокарцинома; сальная аденокарцинома; церуминозная аденокарцинома; мукоэпидермоидная карцинома; цистаденокарцинома; папиллярная цистаденокарцинома; папиллярная серозная цистаденокарцинома; муцинозная цистаденокарцинома; муцинозная аденокарцинома; перстневидно-клеточная карцинома; инфильтрирующая карцинома протоков; медуллярная карцинома; дольковая карцинома; воспалительная карцинома; болезнь Педжета, молочная железа; ацинарно-клеточная карцинома; аденосквамозная карцинома; аденокарцинома с плоскоклеточной метаплазией; тимома злокачественная; опухоль стромы яичника, злокачественная; текома злокачественная; гранулезоклеточная опухоль, злокачественная; иробластома злокачественная; карцинома клеток Сертоли; опухоль из клеток Лейдига, злокачественная; опухоль из липидных клеток, злокачественная; параганглиома злокачественная; экстрамаммарная параганглиома, злокачественная; феохромоцитомы; гломангиосаркома; злокачественная меланома; амеланотическая меланома; поверхностно распространяющаяся меланома; злокачественная меланома в гигантском пигментном невусе; эпителиоидноклеточная меланома; голубой невус, злокачественный; саркома; фибросаркома; фиброзная гистиоцитомы, злокачественная; миксосаркома; липосаркома; лейомиосаркома; рабдомиосаркома; эмбриональная рабдомиосаркома; альвеолярная рабдомиосаркома; стромальная саркома; смешанная опухоль, злокачественная; мюллеровская смешанная опухоль; нефробластома; гепатобластома; карциносаркома; мезенхимомы злокачественная; опухоль Бреннера, злокачественная; листовидная цистосаркома, злокачественная; синовиальная саркома; мезотелиома злокачественная; дисгерминомы;

эмбриональная карцинома; тератома злокачественная; струма яичников злокачественная; хориокарцинома; мезонефрома злокачественная; гемангиосаркома; гемангиоэндотелиома злокачественная; саркома Капоши; гемангиоперицитома злокачественная; лимфангиосаркома; остеосаркома; юкстакортикальная остеосаркома; хондросаркома; хондробластома злокачественная; мезенхимальная хондросаркома; гигантоклеточная опухоль кости; саркома Юинга; одонтогенная опухоль, злокачественная; амелобластная одонтосаркома; амелобластома злокачественная; амелобластная фибросаркома; пинеалома злокачественная; хордома; глиома злокачественная; эпендимома; астроцитомы; протоплазматическая астроцитомы; фибриллярная астроцитомы; астробластома; глиобластома; олигодендроглиома; олигодендробластома; примитивный нейроэктодермальный; саркома мозжечка; ганглионейробластома; нейробластома; ретинобластома; обонятельная нейрогенная опухоль; менингиома злокачественная; нейрофибросаркома; неврилеммома, злокачественная; зернистоклеточная опухоль, злокачественная; злокачественная лимфома; болезнь Ходжкина; Лимфома Ходжкина; парагранулема; злокачественная лимфома, малая лимфоцитарная; злокачественная лимфома, крупноклеточная, диффузная; злокачественная лимфома, фолликулярная; грибовидный микоз; другие уточненные неходжкинские лимфомы; злокачественный гистиоцитоз; множественная миелома; тучноклеточная саркома; иммунопролиферативное заболевание тонкой кишки; лейкоз; лимфолейкоз; плазматочный лейкоз; эритролейкоз; лимфосаркомочный лейкоз; миелоидный лейкоз; базофильный лейкоз; эозинофильный лейкоз; моноцитарный лейкоз; тучноклеточный лейкоз; мегакариобластный лейкоз; миелоидная саркома; и волосатоклеточный лейкоз.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на BCMA и CD38 и используется для лечения плазматочных и аутоиммунных заболеваний, таких как множественная миелома, плазматочный лейкоз, первичная выпотная лимфома и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к BCMA и CD38, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены в таблице 34 (SEQ ID NO:17638-177810, 17884-17956).

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на BCMA и CD22 и применяют для лечения лимфоидных заболеваний и заболеваний плазматических клеток, таких как лимфома, острый лимфолейкоз, множественная миелома, лейкоз плазматических клеток, первичная выпотная лимфома и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к BCMA и CD22, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR приведены в таблице 34.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на BCMA и CD19 и

применяют для лечения лимфоидных заболеваний и заболеваний плазматических клеток, таких как лимфома, острый лимфолейкоз, множественная миелома, плазмноклеточный лейкоз, первичная выпотная лимфома и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к ВСМА и CD19, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены в таблице 34 (SEQ ID NO:17665-17737).

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на ВСМА, CD38 и CD22 и используется для лечения лимфоидных, плазмноклеточных и аутоиммунных заболеваний, таких как множественная миелома, плазмноклеточный лейкоз, первичная выпотная лимфома, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, В-ОЛЛ, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к ВСМА, CD38 и CD22, как описано в настоящей заявке.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на ВСМА, CD38 и CD19 и применяют для лечения лимфоидных, плазмноклеточных и аутоиммунных заболеваний, таких как множественная миелома, плазмноклеточный лейкоз, первичная выпотная лимфома, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, В-ОЛЛ, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к ВСМА, CD38 и CD19, как описано в настоящей заявке.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на ВСМА, CD38, CD22 и CD19 и применяют для лечения лимфоидных, плазмноклеточных и аутоиммунных заболеваний, таких как множественная миелома, плазмноклеточный лейкоз, первичная выпотная лимфома, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, В-ОЛЛ, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к ВСМА, CD38, CD22 и/или CD19, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR приведены в таблице 32.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на ВСМА, CD38, CD22, CD20 и CD19 и применяют для лечения лимфоидных, плазмноклеточных и аутоиммунных заболеваний, таких как множественная миелома, плазмноклеточный лейкоз, первичная выпотная лимфома, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, В-ОЛЛ, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к ВСМА, CD38, CD22, CD20 и/или CD19, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR приведены в таблице 32.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на CD19 и CD22 и

применяют для лечения лимфоидных и аутоиммунных заболеваний, таких как лимфома, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD19 и CD22, как описано в настоящей заявке.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на CD19 и CD20 и применяют для лечения лимфоидных и аутоиммунных заболеваний, таких как лимфома, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD19 и CD22, как описано в настоящей заявке.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на CD19, CD22 и CD20 и применяется для лечения лимфоидных и аутоиммунных заболеваний, таких как лимфома, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD19, CD20 и CD22, как описано в настоящей заявке.

В одном воплощении SAR используют для нацеливания на CD19, CD22, BCMA и/или CD20 и применяют для лечения плазматочных, лимфоидных и аутоиммунных заболеваний, таких как множественная миелома, плазматочный лейкоз, первичная выпотная лимфома, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, острый лимфолейкоз, хронический лимфолейкоз и системная красная волчанка (СКВ). Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD19, CD22, BCMA и/или CD20, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены в таблице 31.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на CD123 и CD33 и используется для лечения миелоидных и миелопролиферативных заболеваний, таких как острый миелоидный лейкоз и миелодисплазия. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD123 и CD33, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (PRT): 22479-22484.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на CD123 и FLT3 и используется для лечения лимфоидных, миелоидных и миелопролиферативных заболеваний, таких как острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз и миелодисплазия. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD123 и FLT3, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (PRT): 22485-22487.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на CD123 и MPL (TPO-R) и используется для лечения лимфоидных, миелоидных и миелопролиферативных заболеваний, таких как острый миелоидный лейкоз, острый лимфоидный лейкоз и

миелодисплазия. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к CD123 и MPL, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (PRT): 22488-22490.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на PSMA и лечения рака предстательной железы. Такой SAR включает антигенсвязывающий домен, специфичный к PSMA, как описано в настоящей заявке.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на PSMA и CD19 и для лечения рака предстательной железы. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к PSMA и CD19, как описано в настоящей заявке. Специфический для CD19 антигенсвязывающий домен используется, прежде всего, для стимуляции активации, пролиферации и расширения SAR.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на PSMA и CD22 и лечения рака предстательной железы. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к PSMA и CD22, как описано в настоящей заявке. Специфический для CD22 антигенсвязывающий домен используется в первую очередь для стимуляции активации, пролиферации и расширения SAR.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на PSMA и CD20 и для лечения рака предстательной железы. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к PSMA и CD20, как описано в настоящей заявке. CD20-специфичный антигенсвязывающий домен используется, прежде всего, для стимуляции активации, пролиферации и расширения SAR.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на PSMA и BCMA и лечения рака предстательной железы. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные для PSMA и BCMA, как описано в настоящей заявке. BCMA-специфичный антигенсвязывающий домен используется, прежде всего, для стимуляции активации, пролиферации и расширения SAR.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на Her2, IL13Ra2 и/или CD19 и лечения рака молочной железы, рака желудка или рака головного мозга. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к Her2, IL13Ra2 и/или CD19, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (PRT): 22465-22473.

В одном воплощении SAR используется для нацеливания на Her2, IL13Ra2, хлоридный канал с низкой проводимостью и/или CD19 и для лечения рака молочной железы, рака желудка или рака головного мозга. Такой SAR включает антигенсвязывающие домены, специфичные к Her2, IL13Ra2, хлоридному каналу с низкой

проводимостью и/или CD19, как описано в настоящей заявке. Примеры таких SAR представлены SEQ ID NO (PRT): 22474-22478, 22491-22495.

В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, нацеленные на Her2, Her3, CD22, EGFR и/или CD19. Примеры таких SAR приведены в таблице 32.

В одном воплощении в раскрытии предлагаются SAR, нацеленные на Her2, IL13Ra2, CD22 и/или CD19. Примеры таких SAR приведены в таблице 32.

В одном воплощении в раскрытии предлагается UNICON SAR, нацеленный на разные антигены и содержащий домен связывания адаптера. Примеры таких SAR представлены в таблице 30.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению можно вводить способом, подходящим для заболевания, которое необходимо лечить (или предотвращать). Количество и частота введения будут определяться такими факторами, как состояние пациента, а также тип и тяжесть заболевания пациента. Когда указано «иммунологически эффективное количество», «эффективное противоопухолевое количество», «эффективное количество, ингибирующее опухоль», или «терапевтическое количество», или «противоинфекционное», количество композиций по настоящему изобретению, которое должно быть введено, может быть определено врачом с учетом индивидуальных различий в возрасте, массе, размере опухоли, распространенности инфекции или метастазов и состояния пациента (субъекта), в зависимости от обстоятельств. В целом можно утверждать, что фармацевтическую композицию, содержащую описанные в данном документе иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки, НК-клетки), можно вводить в дозе от 10^4 до 10^9 клеток/кг массы тела, в некоторых случаях от 10^5 до 10^6 клеток/кг массы тела, включая все целочисленные значения в пределах этих диапазонов. Композиции Т- или НК-клеток также можно вводить многократно в этих дозировках. Клетки можно вводить с помощью методов инфузии, которые широко известны в иммунотерапии (см., например, Rosenberg et al., *New Eng. J. of Med.* 319:1676, 1988) и клеточной терапии.

Диапазоны доз для агента, включая адаптеры SAR и антитела, зависят от активности и охватывают количества, достаточно большие для получения желаемого эффекта, например, замедления роста опухоли или уменьшения размера опухоли. Дозировка не должна быть настолько большой, чтобы вызвать неприемлемые побочные эффекты. Как правило, дозировка будет варьировать в зависимости от возраста, состояния и пола пациента и может быть определена специалистом в данной области. Дозировка также может быть скорректирована врачом в случае каких-либо осложнений. В некоторых воплощениях дозировка находится в диапазоне от 0,001 мг/кг массы тела до 0,5 мг/кг

массы тела. В некоторых воплощениях диапазон доз составляет от 5 мкг/кг массы тела до 100 мкг/кг массы тела. В качестве альтернативы диапазон доз можно титровать для поддержания уровня в сыворотке от 1 мкг/мл до 1000 мкг/мл. Для системного введения субъектам можно вводить терапевтическое количество, такое как, например, 0,1 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг, 2,5 мг/кг, 5 мг/кг, 10 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг, 25 мг/кг, 30 мг/кг, 40 мг/кг, 50 мг/кг и более.

Введение указанных выше доз можно повторить. В некоторых воплощениях дозы вводят один раз в день или несколько раз в день, например, без ограничения указанным, три раза в день. В некоторых воплощениях указанные выше дозы вводят ежедневно в течение нескольких недель или месяцев. Продолжительность лечения зависит от клинического прогресса субъекта и реакции на терапию.

В некоторых воплощениях доза может составлять от около 2 мг/кг до около 15 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 2 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 4 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 5 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 6 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 8 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 10 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять около 15 мг/кг. В некоторых воплощениях доза может составлять от около 100 мг/м² до около 700 мг/м². В некоторых воплощениях доза может составлять около 250 мг/м². В некоторых воплощениях доза может составлять около 375 мг/м². В некоторых воплощениях доза может составлять около 400 мг/м². В некоторых воплощениях доза может составлять около 500 мг/м².

В некоторых воплощениях дозу можно вводить внутривенно. В некоторых воплощениях внутривенное введение может представлять собой инфузию, происходящую в течение периода от около 10 минут до около 3 часов. В некоторых воплощениях внутривенное введение может представлять собой инфузию, происходящую в течение периода от около 30 минут до около 90 минут.

В некоторых воплощениях дозу можно вводить около раза в неделю. В некоторых воплощениях дозу можно вводить еженедельно. В некоторых воплощениях дозу можно вводить еженедельно в течение от около 12 недель до около 18 недель. В некоторых воплощениях дозу можно вводить примерно каждые 2 недели. В некоторых воплощениях дозу можно вводить примерно каждые 3 недели. В некоторых воплощениях доза может составлять от около 2 мг/кг до около 15 мг/кг, вводимая примерно каждые 2 недели. В некоторых воплощениях доза может составлять от около 200 мг/м² до около 400 мг/м², вводимая внутривенно примерно каждые 2 недели. В некоторых воплощениях в общей

сложности вводят от около 2 до около 10 доз. В некоторых воплощениях всего вводят 4-8 доз. В некоторых воплощениях всего вводят 5 доз. В некоторых воплощениях всего вводят 6 доз. В некоторых воплощениях введение осуществляется в течение от около 4 недель до около 12 недель. В некоторых воплощениях начальная доза может быть в около 1,5-2,5 раза больше, чем последующие дозы.

Терапевтически эффективное количество представляет собой количество агента, достаточное для получения статистически значимого, измеримого изменения размера опухоли, роста опухоли и т.п. (измерения эффективности описаны ниже). Такие эффективные количества можно определить в клинических испытаниях, а также в исследованиях на животных.

Агент можно вводить внутривенно путем инъекции или путем постепенной инфузии с течением времени. При наличии соответствующего состава для данного пути, например, агенты, используемые в способах и композициях, описанных в настоящей заявке, можно вводить внутривенно, интраназально, путем ингаляции, внутрибрюшинно, внутримышечно, подкожно, внутривентрикулярно, и при желании их можно доставлять перистальтически или другими способами, известными специалистам в данной области. Предпочтительно, чтобы используемые в данном документе соединения вводились перорально, внутривенно или внутримышечно онкологическому пациенту. Также конкретно рассматривается местное введение непосредственно в опухолевую массу.

В воплощениях, где субъекту вводят UNISAR или UNICON-SAR, клетку UNISAR/UNICON-SAR и адаптер SAR можно вводить вместе или по отдельности. В воплощениях, где субъекту отдельно вводят клетку UNISAR/UNICON-SAR и адаптер SAR, каждую из композиций можно вводить отдельно в соответствии с любыми дозировками и путями/процедурами введения, описанными в настоящей заявке.

Точные количества активного ингредиента, которые необходимо вводить, зависят от решения практикующего врача и являются индивидуальными для каждого человека. Однако в настоящем описании раскрыты подходящие диапазоны доз для системного применения, которые зависят от пути введения. Подходящие режимы введения также переменны, но типичными являются начальное введение, за которым следуют повторные дозы с интервалами в один или несколько часов с последующей инъекцией или другим введением. В качестве альтернативы предполагается непрерывная внутривенная инфузия, достаточная для поддержания концентраций в крови в диапазонах, указанных для терапии *in vivo*.

В одном воплощении SAR или клетку, содержащую SAR раскрытия, используют в сочетании с существующей терапией или терапевтическим средством, например,

противораковой терапией. Таким образом, в другом аспекте изобретение также относится к комбинированной терапии, включающей введение SAR-T или фармацевтической композиции согласно изобретению и противораковую терапию. Противораковая терапия может включать терапевтическое средство или лучевую терапию и включает генную терапию, вирусную терапию, РНК-терапию, трансплантацию костного мозга, нанотерапию, таргетную противораковую терапию или онколитические лекарственные средства. Примеры других терапевтических агентов включают другие ингибиторы контрольных точек, противоопухолевые агенты, иммуногенные агенты, аттенуированные раковые клетки, опухолевые антигены, антигенпрезентирующие клетки, такие как дендритные клетки, активированные опухолевым антигеном или нуклеиновыми кислотами, иммуностимулирующие цитокины (например, IL-2, IFN α 2, GM-CSF), малые молекулы-мишени и биологические молекулы (такие как компоненты путей передачи сигнала, например, модуляторы тирозинкиназ и ингибиторы рецепторных тирозинкиназ, а также агенты, связывающиеся с опухолеспецифичными антигенами, включая антагонисты EGFR), противовоспалительный агент, цитотоксический агент, радиотоксический агент или иммуносупрессивный агент и клетки, трансфицированные геном, кодирующим иммуностимулирующий цитокин (например, GM-CSF), химиотерапию. В одном воплощении SAR-T или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению применяют в сочетании с хирургическим вмешательством. SAR-T или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить одновременно или в разные периоды времени, что и другие виды терапии, например, одновременно, отдельно или последовательно.

В одном воплощении способ включает введение клетки, экспрессирующей молекулу SAR, как описано в настоящей заявке, в сочетании с агентом, который усиливает активность экспрессирующей SAR клетки, где агент представляет собой цитокин, например, IL-2, IL-7, IL-15, IL21 или их комбинация.

В других воплощениях клетки, экспрессирующие молекулу SIR, вводят в комбинации с агентом, который ослабляет один или несколько побочных эффектов, связанных с введением клеток, экспрессирующих молекулу SIR. Побочные эффекты, связанные с SIR-экспрессирующими клетками, могут быть выбраны из синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ), гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (ГЛГ) или неврологических осложнений. Примеры таких агентов включают стероиды (например, преднизон, дексаметазон), антагонисты IL6R (например, тоцилизумаб), ингибиторы киназы src (например, дазатиниб), ингибитор киназы (например, ибрутиниб), ингибиторы кальциневрина (например, такролимус или циклоспорин А) или химиотерапевтические

лекарственные средства (например, циклофосфамид, метотрексат или винкристин).

В воплощениях любого из вышеперечисленных способов или применений клетки, экспрессирующие молекулу SIR, вводят в комбинации с агентом, который лечит заболевание, связанное с экспрессией антигена-мишени, например, любым из второго или третьего способов лечения, раскрытых в настоящей заявке. Дополнительные примерные комбинации включают одно или более из следующего.

В другом воплощении клетку, экспрессирующую молекулу SIR, например, как описано в настоящей заявке, можно вводить в комбинации с другим агентом, повышающим экспрессию антигена-мишени, против которого направлен SAR.

В другом воплощении SIR-экспрессирующая иммунная эффекторная клетка по настоящему изобретению, например, Т-клетка, НК-клетка или гемопоэтическая стволовая клетка, вводится субъекту вместе с агентом, который нарушает иммуносупрессивные пути в микроокружении опухоли при некоторых видах раковых заболеваний.

В одном воплощении SAR-экспрессирующую иммунную эффекторную клетку по настоящему изобретению, например, Т-клетку, НК-клетку или гемопоэтическую стволовую клетку, вводят субъекту, которому ранее была проведена трансплантация стволовых клеток, например, аутологичная трансплантация стволовых клеток или аллогенная трансплантация стволовых клеток.

В одном воплощении SIR-экспрессирующие иммунные эффекторные клетки по настоящему изобретению, например, Т-клетки, НК-клетки или гемопоэтические стволовые клетки, вводят субъекту, который ранее получил дозу химиотерапии, такой как мелфалан, флударабин, этопозид или циклофосфамид.

В одном воплощении SAR-экспрессирующие иммунные эффекторные клетки по настоящему изобретению, например, Т-клетки, НК-клетки или гемопоэтические стволовые клетки, вводят субъекту, который ранее получил дозу лекарственного средства, усиливающего экспрессию целевого антигена SAR, такие как соединения 27, 40 и 49 (Du, J et al., Blood, предварительно опубликовано онлайн 12 октября 2016 г.), триоксид мышьяка или ATRA. Точно так же SAR, нацеленный на BCMA, можно использовать в сочетании с ингибиторами γ -секретазы.

В одном воплощении клетку, экспрессирующую молекулу SAR, например, молекулу SAR, описанную в настоящей заявке, вводят в комбинации с агентом, который повышает эффективность клетки, экспрессирующей молекулу SIR, например, агентом, описанным в настоящей заявке. В одном воплощении клетки, экспрессирующие молекулу SAR, например молекулу SAR, описанную в настоящей заявке, вводят в сочетании с низкой дозой ингибитора mTOR, повышающей иммунитет.

В одном воплощении клетки, экспрессирующие SAR, используют в сочетании с агентом, который регулирует активность клеток, экспрессирующих SAR. В одном воплощении агент представляет собой SAR-адаптер.

В некоторых воплощениях предложены способы истощения сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих SAR, у субъекта, которому вводят указанные клетки. Истощение может происходить путем ингибирования или элиминации.

В одном аспекте способ истощения сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих SAR, содержащий эпитоп, специфичный к моноклональному антителу, включает контактирование указанной сконструированной иммунной клетки с моноклональным антителом, специфичным к этому эпитопу.

В некоторых воплощениях способ истощения у субъекта, которому вводят сконструированные иммунные клетки, экспрессирующие SAR, содержащий эпитоп, специфичный в отношении моноклонального антитела, включает введение субъекту моноклонального антитела, специфичного в отношении эпитопа. В этих воплощениях введение субъекту моноклонального антитела, специфичного к эпитопу, присутствующему во внеклеточном домене SAR, устраняет или ингибирует активность сконструированных SAR-экспрессирующих иммунных клеток у субъекта. В одном аспекте истощение сконструированных SAR-экспрессирующих иммунных клеток позволяет восстановить эндогенную популяцию SAR-экспрессирующих клеток.

В одном аспекте раскрытие относится к способу стимулирования восстановления эндогенных антиген-экспрессирующих клеток у субъекта, которому вводят сконструированные иммунные клетки, экспрессирующие на клеточной поверхности SAR, нацеленный на один или несколько антигенов, экспрессируемых на эндогенно экспрессирующих клетках, содержащих эпитоп, специфичный к антигенсвязывающему агенту (например, моноклонального антитела, домена vHH, фрагмента антитела, неиммуноглобулинового антигенсвязывающего остова и т.п.), причем способ включает введение субъекту антигенсвязывающего агента (например, моноклонального антитела, домена vHH, фрагмента антитела, неиммуноглобулинового антигена связывающий каркас и т.п.), специфичного к эпитопу. Термин «клетки, экспрессирующие эндогенный антиген», используемый в данном документе, относится к нормальным здоровым клеткам, которые экспрессируют антиген, являющийся мишенью SAR. В примерном воплощении клетки, экспрессирующие эндогенный антиген, относятся к нормальным клеткам костного мозга, которые экспрессируют CD33 у субъекта, которому вводили CD33-специфичные SAR-T-клетки. Другие примеры клеток, экспрессирующих эндогенный антиген, включают клетки, экспрессирующие CD34, CD123, CD70, CD19 и т.п.

В некоторых воплощениях эндогенные антиген-экспрессирующие клетки представляют собой эндогенные антиген-экспрессирующие клетки костного мозга. В одном аспекте термин «восстановление» относится к увеличению количества эндогенных антиген-экспрессирующих клеток. Количество эндогенных антиген-экспрессирующих клеток может увеличиваться из-за увеличения пролиферации эндогенных антиген-экспрессирующих клеток и/или из-за снижения элиминации эндогенных антиген-экспрессирующих клеток SAR-экспрессирующими сконструированными иммунными клетками. В некоторых воплощениях введение антигенсвязывающего агента (например, моноклонального антитела) субъекту истощает антигенэкспрессирующие сконструированные иммунные клетки и увеличивает количество эндогенных антигенэкспрессирующих клеток, например, эндогенных антигенэкспрессирующих клеток-предшественников костного мозга, у субъекта. В одном воплощении введение антигенсвязывающего агента (например, моноклонального антитела) субъекту увеличивает количество эндогенных антигенэкспрессирующих клеток по меньшей мере примерно на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% по сравнению с количеством эндогенных антиген-экспрессирующих клеток до введения антигенсвязывающего агента.

В одном аспекте предложен способ лечения состояния, опосредованного антигеном X, у субъекта, включающий: (a) введение субъекту сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих на клеточной поверхности X-специфичные SAR, содержащие один или несколько эпитопов, специфичных к одному или нескольким моноклональным антителам; и (b) последующее истощение сконструированных иммунных клеток у субъекта путем введения субъекту одного или нескольких моноклональных антител, специфичных к эпитопу. В одном воплощении X-специфичный SAR может быть биспецифическим или мультиспецифическим SAR, который нацелен на антигены в дополнение к антигену X.

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий агент, используемый в способе истощения сконструированных иммунных клеток, экспрессирующих SAR, выбран из алемтузумаба, ибритумомаба, труксетана, муромонаба-CD3, тозитумомаба, абциксимаба, базиликсимаба, брентуксимаба, ведотина, цетуксимаба, инфликсимаба, ритуксимаба, бевацизумаба, цертолизумаба пегола, даклизумаба, экулизумаба, эфализумаба, гемтузумаба, натализумаба, омализумаба, паливизумаба, ранибизумаба, тоцилизумаба, трастузумаба, ведолизумаба, адалимумаба, белимумаба, канакинумаба, деносумаба, голимумаба, ипилимумаба, офатумумаба, панитумумаба, QBEND-10 и их комбинаций.

В некоторых воплощениях указанный эпитоп, специфичный в отношении моноклонального антитела (mAb-специфичный эпитоп), представляет собой эпитоп или

мимеотоп CD20 (SEQ ID NO: 22418), а антигенсвязывающий агент, специфичный к эпитопу, представляет собой ритуксимаб. В некоторых воплощениях указанный эпитоп, специфичный к моноклональному антителу (mAb-специфичный эпитоп), представляет собой эпитоп CD20 (SEQ ID NO: 22412), а антигенсвязывающий агент, специфичный к этому эпитопу, представляет собой обинутузумаб. В некоторых воплощениях указанный эпитоп, специфичный к моноклональному антителу (mAb-специфичный эпитоп), представляет собой эпитоп Her2, например, SEQ ID NO: 22432, а антигенсвязывающий агент, специфичный к эпитопу, представляет собой Герцептин (трастузумаб), Кадсила (Ado-трастузумаб), или ENHERTU (fam-трастузумаб дерукстекан-nxki). В некоторых воплощениях указанный эпитоп, специфичный для антигенсвязывающего агента (например, mAb-специфичный эпитоп), представляет собой эпитоп EGFR, например, SEQ ID NO: 22421-22425, а антигенсвязывающий агент, специфичный к эпитопу, представляет собой цетуксимаб. В некоторых воплощениях указанный эпитоп, специфичный к моноклональному антителу (mAb-специфичный эпитоп), представляет собой эпитоп EGFR, например, SEQ ID NO: 22426-22431, а антигенсвязывающий агент (например, mAb), специфичный к этому эпитопу, представляет собой панитумумаб.

В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту моноклонального антитела. В некоторых воплощениях количество эпитоп-специфичных mAb, вводимых субъекту, достаточно для элиминации по меньшей мере 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% CAR-экспрессирующих иммунных клеток в субъекте.

В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту 375 мг/м^2 ритуксимаба один или несколько раз в неделю. В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту 6 мг/кг панитумумаба путем внутривенной инфузии в течение 60 минут один или несколько раз в неделю или каждые 14 дней. В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту 8 мг/кг Герцептина путем внутривенной инфузии в течение 60 минут один или несколько раз в неделю или каждые 14 дней. В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту 400 мг/м^2 цетуксимаба один или несколько раз в неделю. В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту $3,6 \text{ мг/кг}$ Кадсила один или несколько раз каждые 3 недели. В некоторых воплощениях стадия введения моноклонального антитела субъекту включает инфузию субъекту $5,4 \text{ мг/кг}$ ENHERTU один или несколько раз каждые 3 недели.

В некоторых воплощениях, когда иммунные клетки, экспрессирующие SAR, содержащие эпитоп, специфичный к mAb (иммунные клетки, экспрессирующие SAR), истощаются в анализе CDC с применением эпитоп-специфичных mAb, количество жизнеспособных экспрессирующих SAR иммунных клеток уменьшается, например, по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%.

В некоторых воплощениях цитотоксическое лекарственное средство связано с эпитоп-специфическим антигенсвязывающим агентом (например, mAb), которые используются для истощения SAR-экспрессирующих иммунных клеток. Сочетая возможности нацеливания моноклональных антител со способностью цитотоксических лекарственных средств убивать клетки, конъюгат антитело-лекарственное средство (англ. antibody-drug conjugate, ADC) позволяет точно различать здоровые и пораженные ткани по сравнению с применением одного лекарственного средства.

В некоторых воплощениях эпитоп-специфическое mAb для инфузии предварительно конъюгируют с молекулой, способной стимулировать комплементзависимую цитотоксичность (CDC).

Следовательно, система комплемента помогает или дополняет способность антител выводить патогены из организма. При стимуляции одним из нескольких запускается каскад активации в виде массивного усиления ответа и активации комплекса мембранной атаки, убивающей клетки. Для конъюгации mAb можно использовать различные молекулы, такие как гликаны [Courtois, A, Gac-Breton, S., Berthou, C, Guezennec, I, Bordron, A. and Boisset, C. (2012), Complement dependent cytotoxicity activity of therapeutic antibody fragments is acquired by immunogenic glycan coupling, Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717-3458; <http://www.ejbiotechnology.info> DOI: 10.2225/voll5-issue5).

В раскрытии также предлагаются наборы для использования в настоящих способах. Наборы по настоящему изобретению включают один или несколько контейнеров, содержащих полинуклеотид, кодирующий SAR, или сконструированную иммунную клетку, содержащую полинуклеотид, кодирующий SAR, как описано в настоящей заявке, и инструкции по применению в соответствии с любым из описанных в данном документе способов согласно настоящему изобретению. SAR и другие композиции и способы согласно раскрытию могут быть использованы для диагностических, научно-исследовательских и опытно-конструкторских и терапевтических применений. Как правило, эти инструкции содержат описание введения сконструированных иммунных клеток для вышеописанного терапевтического лечения. SAR и другие композиции и способы изобретения могут быть использованы для диагностических, терапевтических исследований и разработок, лабораторных исследований и терапевтических применений.

Таким образом, наборы и сопровождающие инструкции могут содержать описание того, как производить и использовать различные композиции и способы по настоящему изобретению для диагностики, терапевтических исследований и разработок, лабораторных исследований и терапевтических применений.

Набор может включать одно или несколько средств для лимфодеплеции и/или миелодеплеции (например, алектумаб, цитоксан, флударабин, циклофосфамид, этопозид или темозоломид). Набор может включать один или несколько адаптеров или антител, которые можно использовать в сочетании с SAR раскрытия. Набор может включать лекарственные средства (например, дазатиниб или тоцилизумаб) или адаптеры SAR для контроля активности клеток, экспрессирующих SAR. Набор может включать карту и последовательность SAR и вектор, кодирующий SAR и адаптеры SAR. Набор может включать инструкции о том, как создавать векторы, экспрессирующие SAR, как вводить SAR в иммунные клетки (например, Т- или NK-клетки), как размножать клетки, экспрессирующие SAR, и как тестировать активность экспрессирующих SAR клеток.

Наборы могут включать инструкции по получению новых SAR, адаптеров SAR, антител, включая биспецифичные антитела на основе новых антигенсвязывающих доменов, описанных в данном раскрытии, и инструкции относительно способов применения таких реагентов.

Инструкции, относящиеся к применению сконструированных иммунных клеток, как описано в данном документе, обычно включают информацию о дозировке, графике дозирования и способе введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут представлять собой контейнер для однократной дозы, объемные упаковки (например, многодозовые упаковки) или субъединичные дозы. Инструкции, поставляемые в наборах по настоящему изобретению, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или вкладыше в упаковку (например, лист бумаги, включенный в комплект), но машиночитаемые инструкции (например, инструкции на магнитном или оптическом диске) также являются приемлемыми. В некоторых воплощениях контейнеры можно идентифицировать (например, по этикетке, штрих-коду или радиочастотной идентификации (RFID)), отследить или нанести на них машиночитаемый идентификатор контейнера.

Наборы по данному раскрытию находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, без ограничения указанным, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и т.п. В некоторых воплощениях контейнер (например, пластиковый пакет) подходит для внутривенного вливания. Также рассматриваются упаковки для применения в сочетании с

конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения (например, распылитель) или устройство для инфузий, такое как мининасос. Набор может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). Контейнер может также иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). По крайней мере, один активный агент в композиции представляет собой SAR. Контейнер может дополнительно содержать второй фармацевтически активный агент.

Наборы могут дополнительно предоставлять дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретирующая информация. Обычно набор включает контейнер и этикетку или лист-вкладыш (вкладыши) на контейнере или связанный с ним.

Если иное не определено в данном документе, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, должны иметь значения, обычно понятные специалистам в данной области техники. В то время как вышеприведенное в раскрытии предлагается общее описание субъекта изобретения, охватываемого настоящим изобретением, включая способы, а также наилучший вариант создания и применения этого изобретения, следующие примеры приведены для того, чтобы дополнительно помочь специалистам в данной области осуществить на практике это раскрытие и предоставить его полное письменное описание. Однако специалисты в данной области поймут, что особенности этих примеров не следует рассматривать как ограничивающие изобретение, объем которого следует понимать из формулы изобретения и ее эквивалентов, прилагаемых к настоящему описанию. Различные дополнительные аспекты и воплощения настоящего раскрытия будут очевидны специалистам в данной области техники ввиду настоящего раскрытия.

Модели на животных также можно использовать для измерения активности SAR. Например, можно использовать модель ксенотрансплантата с применением SAR+ Т-клеток, специфичных к антигену, ассоциированному со раком человека, описанному в настоящей заявке, для обработки первичного человеческого пре-В-ОЛЛ у иммунодефицитных мышей. Может быть оценен дозозависимый ответ на обработку SAR. См., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(S): 1453-1464 (2009). Оценка клеточной пролиферации и продуцирования цитокинов была описана ранее, например, у Milone et al., *Molecular Therapy* 17(S): 1453-1464 (2009). Цитотоксичность можно оценить с помощью стандартного анализа высвобождения ^{51}Cr или анализа Matador. Технологии визуализации можно использовать для оценки специфичного переноса и распространения

SIR в моделях животных с опухолями.

Другие анализы, в том числе описанные в разделе «Примеры» настоящего документа, а также те, которые известны в данной области техники, также могут быть использованы для оценки SAR, описанных в настоящей заявке.

Все документы и идентификаторы баз данных последовательностей, упомянутые в этом описании, полностью включены в настоящее описание ссылкой. «И/или» в настоящей заявке следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов вместе или без друг друга. Например, «А и/или В» следует понимать как конкретное раскрытие каждого из (i) А, (ii) В и (iii) А и В, точно так же, как если бы каждый из них изложен в настоящей заявке отдельно. Если контекст не указывает иное, описания и определения признаков, изложенные выше, не ограничиваются каким-либо конкретным аспектом или воплощением изобретения и в равной степени применяются ко всем описанным аспектам и воплощениям.

Раскрытие дополнительно описано в неограничивающих примерах.

ПРИМЕРЫ

Линии клеток, сконструированные для экспрессии люцифераз (например, GLuc или NLuc) для измерения цитотоксичности различных конструкций, нацеленных на различные антигены клеточной поверхности и внутриклеточные антигены, представлены в таблице С-1. Клеточные линии, использованные в этих экспериментах, антигены-мишени на клеточных линиях и их питательные среды показаны в Таблице С-1 ниже. Относительный уровень экспрессии обычно используемых антигенов линии крови в нескольких линиях клеток-мишеней представлен в таблице С-2. Клетки культивировали при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO₂. Линии клеток были получены из ATCC, программы реагентов NIH AIDS или были доступны в лаборатории.

Таблица С-1

Клеточная линия	Условия культивирования	Экспрессируемые примерные антигены-мишени SAR
BC-1	RPMI, 20% FCS	BCMA, GPRC, CD138
BC-3	RPMI, 20% FCS	BCMA, GPRC, CD138
BCBL-1	RPMI, 20% FCS	GPRC, CD138
JSC-1	RPMI, 20% FCS	GPRC, CD138
MM1S	RPMI, 10% FCS	CD38, GPRC, CD44, CD200R
U266	RPMI, 10% FCS	BCMA, WT1/HLA-A2+, CS1, CLL1, CD138, c-MET, IL6R, CD179b, NY-ESO/HLA-A2, NYBR, LAMP1
L363	RPMI, 10% FCS	BCMA, GPRC, WT1/HLA-A2+, CS1, CLL1, CD138, NY-ESO/HLA-A2, NYBR, LAMP1
K562	RPMI, 10% FCS	CD33, IL1Ra, TnAg
BV173	RPMI, 10% FCS	CD123, CD179b, IL1Ra, WT1/HLA-A2+, CXCR4, FLT3, CD179a

Клеточная линия	Условия культивирования	Экспрессируемые примерные антигены-мишени SAR
Nalm6	RPMI, 10% FCS	CD19, CD20, CD22, CD179b, CD179a
HL60	RPMI, 10% FCS	CD33, CD34, CLL1, IL6R, CD32, CD179
U937	RPMI, 10% FCS	CD4, CLL1
RS:411 (RS411)	RPMI, 20% FCS	CD19, Фолатный рецептор-бета (FR-бета), TGF-бета, CD179b, NKG2D, FLT3, CD179a
MV:411	RPMI, 10% FCS	FLT3, CD123, FR-бета
Raji	RPMI, 10% FCS	CD19, CD20, CD22, BCMA, CD38, CD70, CD79, Фолатный рецептор-бета, CLL1
HEL-92.1.7 (HEL)	RPMI, 10% FCS	MPL, CD33, CD32, CD200R
Jurkat	RPMI, 10% FCS	TnAg, TSLRP, TSHR, CD4, CD38
Daudi	RPMI, 10% FCS	BCMA, FR-бета
REC-1	RPMI, 10% FCS	NKG2D, ROR1
KG-1	RPMI, 20% FCS	CD33, CD34, CD123, TSLRP
CEM	RPMI, 10% FCS	CD5, CD43
U937	RPMI, 10% FCS	CD4, CLL1
LAMA5	RPMI, 10% FCS	WT1/HLA-A2
A549	DMEM, 10% FCS	ROR1, CD22, TIM1, CDH17
HT29	DMEM, 10% FCS	EGFR, SLEA, c-MET
Molm-13	RPMI, 20% FCS	FLT3, IL6R, LAMP1, TSLRP, CD4, CSF2RA, CXCR4, IL6R, CSF2RA, GPC3
A431	DMEM, 10% FCS	EGFR, Фолатный рецептор-альфа, Her3
P19	DMEM, 10% FCS	SSEA
THP-1	RPMI, 10% FCS	CD32, CD33, CXCR4, CD123, CD44, IL6R, Фолатный рецептор-бета, CD70, LAMP1, FLT3, CSF2RA
U87MG	DMEM, 10% FCS	CD276, gpNMB, IL13RA2
LoVo	DMEM, 10% FCS	Тканевой фактор, CDH17, EGFR
SKOV-3	DMEM, 10% FCS	Фолатный рецептор-альфа (FR1), FSHR, Her2, Her3, LHR, MSLN, TIM1, EPCAM
NCI-H1993	DMEM, 10% FCS	EGFR
Kasumi-1	RPMI, 20% FCS	CLEC5A, PR1/HLA-A2, TGF-бета,
Jeko-1	RPMI, 20% FCS	BCMA, ROR1
PC-3	DMEM, 10% FCS	CGH, TROP2, PSCA, PSMA, EPCAM, FSHR, CLD18A2 (CLDN18.2)
HeLa	DMEM, 10% FCS	EGFR, FR1, MSLN, TSHR
LnCap	DMEM, 10% FCS	EGFR, FSHR, PSCA, PSMA, CD22, Her3, CD22, LHR, CLD18A2 (CLDN18.2)
OVCAR-3	DMEM, 10% FCS	B7H4, CDH6, DLL3, FR1, FSH, LHR, MSLN, PTK7, TnAg, TSHR, L1CAM
MEL-624	DMEM, 10% FCS	CDH19, GD2, GD3, gp100/HLA-A2, gpNMB, HMWMAA, NYESO/HLA-A2, MART1/HLA-A2
LS174-T	DMEM, 10% FCS	CEA
MEL-526	DMEM, 10% FCS	GD2
MDA-MB231	DMEM, 10% FCS	CD324, Muc1
L1236	RPMI, 20% FCS	CD30, CD23, PDL1
L428	RPMI, 20% FCS	CD30, CD123, CCR4, PDL1
L540	RPMI, 20% FCS	CD30, CCR4, PDL1
Molt-16	RPMI, 20% FCS	IL1ra, NKG2D

Клеточная линия	Условия культивирования	Экспрессируемые примерные антигены-мишени SAR
CEM	RPMI, 10% FCS	CD5
MG-63	DMEM, 10% FCS	IL13RA2
Karpas-299	RPMI, 20% FCS	Alk, GPRC, PDL1
MCF7	DMEM, 10% FCS	B7D4, CD276, TROP2, Her3, Muc1, LewisY, LHR
AA-2	RPMI, 10% FCS	HIV1, гликопротеин env (gp120)
HL2/3	DMEM, 10% FCS	HIV1, гликопротеин env (gp120)
TF228.1.16	DMEM, 10% FCS	HIV1, гликопротеин env (gp120), CCR4
TT	DMEM, 10% FCS	TGF-бета, TSHR, GFR-альфа4
DMS79	RPMI, 10% FCS	Фукозил-GM1, Slea (CA19.9; Сиалиловый антиген Льюиса)
LAN-5	DMEM, 10% FCS	ALK, DLL3, GFR-альфа4, FUCOSYL-GM1
PEER1	RPMI, 10% FCS	TSHR
SK-MEL-37	DMEM, 10% FCS	DLL3, GD2
F9	DMEM, 10% FCS	SSEA
HerG2	DMEM, 10% FBS	GPC3, AFP/HLA-A2, TAJ

Таблица С-2. Относительная экспрессия различных антигенов в клеточных линиях гемобластозов по шкале от 1 до 5, где 5 соответствует самому высокому значению.

	RAJI	RAJI-CD19-KO	NLAM6	RS;411	Daudi	L363	U266	THP
CD19	5	0	4	3	4,5	0	0	0
CD22	2	2	2	3	3	0	0	0
CD20	4	4	0,2	0	5	0	0	0
BCMA	4	4	0,2	0	4	4	4	0
CD38	4	4	4	4	5	5	3	3

Линия клеток Jurkat (клон E6-1), созданная с применением NFAT-зависимого репортерного гена EGFP (или GFP), была подарена доктором Arthur Weiss из Калифорнийского университета в Сан-Франциско и была описана для изучения передачи сигналов CAR ((Wu, CY et al., Science 350:293-302, 2015). Клетки Jurkat поддерживали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% FBS, пенициллина и стрептомицина.

Получение лентивирусных векторов, кодирующих SAR

Использовали лентивирусные векторы pLenti-EF1a или pLenti-EF1a (SEQ ID NO: 1), pLenti-EF1a-DWPRE [SEQ ID NO: 2] и вектор pCCLc-MNDU3 (SEQ ID NO: 3). Вектор psPAX2 был подарен Didier Trono (плазмида Addgene # 12260). Плазмида оболочки pLP/VSVG и клетки 293FT были получены из Invitrogen (ThermoFisher Scientific).

Получение химерного антигенного рецептора (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR и TFP и т.п.), получение и применение гибридных белков GGS-NLuc (анализы Toranga и Malibu-Glo), а также получение и применение люциферазы (например, GLuc)

были описаны репортерные клеточные линии для измерения клеточной цитотоксичности с применением анализов Matador (PCT/US2017/024843, PCT/US2017/025602, PCT/US2017/052344, PCT/US2017/064379 и PCT/US2018/53247).

Лентивирусные и ретровирусные векторы

Лентивирусы были получены путем трансфекции на основе фосфата кальция или PI в клетки 293FT, по существу, как описано ранее (Matta H et al, Cancer biology and therapy. 2(2):206-10. 2003). Вирус использовали либо в свежем виде для заражения клеток-мишеней, либо хранили аликвотами в замороженном виде при -80°C.

Заражение Т-клеток и PBMC

Клетки лейкоцитарной пленки получали от здоровых деидентифицированных взрослых доноров из Банка крови Детской больницы Лос-Анджелеса и использовали для выделения мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) с помощью центрифугирования в градиенте Ficoll-Нураque. PBMC либо использовали как таковые, либо использовали для выделения Т-клеток с применением магнитных микрогранул CD3 (Miltenyi Biotech). PBMC или выделенные Т-клетки повторно суспендировали в среде XVIVO (Lonza), замещенной 10 нг/мл антитела к CD3, 10 нг/мл антитела к CD28 и 100 МЕ рекомбинантного человеческого IL2. Клетки культивировали при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO₂. Клетки активировали в вышеуказанной среде за 1 день до заражения лентивирусными векторами. Как правило, первичные клетки (например, Т-клетки) заражали утром с помощью спин-инфекции (1800 об/мин в течение 90 минут при 37°C с помощью 300 мкл концентрированного вируса, ресуспендированного в среде XVIVO в присутствии 8 мкг/мл Polybrene® (Sigma, кат. № H9268). Среду меняли вечером и заражение повторяли еще два дня, всего 3 заражения. После 3-го инфицирования клетки осаждали и ресуспендировали в свежей среде XVIVO, содержащей 10 нг/мл антитела к CD3, 10 нг/мл антитела к CD28 и 100 МЕ рекомбинантного человеческого IL2, добавляли соответствующие антибиотики (если указано) и помещали во флакон для культивирования клеток для отбора, если не указано иное. Клетки культивировали в указанной выше среде в течение 10-15 дней, если не применяли отбор по чувствительности к лекарственному средству, и в течение 20-30 дней, если использовали отбор по чувствительности к лекарственному средству. В случаях, когда клетки были инфицированы лентивирусом, экспрессирующим EGFP, их размножали без отбора по чувствительности к лекарственному средству или сортировки потоком для обогащения клетками, экспрессирующими EGFP. Для инфицирования линий раковых клеток приблизительно 500 000 клеток инфицировали 2 мл неконцентрированной вирусной надосадочной жидкости в общем объеме 3 мл с помощью Polybrene® (Sigma, кат. №

H9268). Затем на следующее утро клетки осаждали и ресуспендировали в среде с соответствующими антибиотиками и помещали во флакон для культивирования клеток для отбора.

Анализ FACS для обнаружения экспрессии SAR

Для обнаружения SAR с применением окрашивания на белок L собирали 1×10^6 клеток и трижды промывали 3 мл охлажденного на льду $1 \times$ PBS, содержащего 4% промывочного буфера бычьего сывороточного альбумина (BSA). После промывки клетки ресуспендировали в 0,1 мл охлажденного на льду промывочного буфера, содержащего 1 мкг протеина L, при 4°C в течение 1 часа. Клетки трижды промывали охлажденным на льду промывочным буфером, а затем инкубировали (в темноте) с 10 мкл APC-конъюгированного стрептавидина в 0,1 мл промывочного буфера в течение 30 минут с последующими двумя промываниями охлажденным на льду промывочным буфером. FACS выполняли с применением анализатора FACSVersе от BD Biosciences.

Анализ для обнаружения экспрессии антигенов на клетках-мишенях и определения антигенсвязывающей активности различных антигенсвязывающих фрагментов, используемых при конструировании SAR и BiTes.

Экспрессию антигенов на клетках-мишенях определяли биоинформационными подходами в сочетании с иммуноокрашиванием антиген-специфичными антителами или высокочувствительным анализом обнаружения антигена, как описано в PCT/US2017/025602 и полностью включено в настоящую заявку ссылкой. Этот анализ включает слияние репортерного фрагмента GLuc или NLuc с антигенсвязывающим доменом антитела, scFv, vHH или любым другим антигенсвязывающим фрагментом или любым рецептором и лигандом. SEQ ID NO примерных растворимых форм нескольких антигенов, содержащих их внеклеточные домены, объединенные с Luc, представлены в Таблице 23. Эти конструкции также несут ген устойчивости к пурамицину (PAC), который является необязательным и не требуется для функциональности растворимых белков. SEQ ID No примерного scFv, объединенного с Luc, представлены в Таблице 21. SEQ ID No примерного SVH, объединенного с Luc представлены в таблице 22. Эти конструкции также несут ген устойчивости к пурамицину (PAC), который является необязательным и не требуется для функциональности гибридных белков люциферазы scFv.

Иммунные эффекторныe клетки, экспрессирующие SAR, тестировали в представленных ниже анализах для идентификации функционального SAR.

(A) Анализ Toranga (анализ связывания NLuc): Jurkat-NFAT-GFP или T-клетки, экспрессирующие контрольный вектор и SAR, окрашивают целевым гибридным белком

антиген-NLuc (как описано выше) и определяют их способность связываться с антигеном-мишенью путем измерения активности NLuc. Например, клетки Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие SAR на основе FMC63, нацеленный на CD19, демонстрируют повышенное связывание с гибридным белком CD19-NLuc по сравнению с клетками Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующими контрольный вектор, или родительскими клетками Jurkat-NFAT-GFP.

(В) Анализ продуцирования цитокинов: Jurkat-NFAT-GFP или Т-клетки, экспрессирующие контрольный вектор и SAR, совместно культивируют с линиями клеток-мишеней в течение 4-96 часов, а надосадочную жидкость исследуют на индукцию экспрессии цитокинов (например, IL2, IFN γ , TNF α и т.п.) с помощью ELISA.

(С) Анализ цитотоксической активности *in vitro* и *in vivo*: неинфицированные Т-клетки или клетки, экспрессирующие контрольный вектор или SAR, совместно культивируют с клеточными линиями-мишенями, экспрессирующими несекретируемую форму люциферазы (такую как GLuc, NLuc, Turboluc 16). и т.п.) в течение 4-96 часов и индукцию лизиса клеток исследовали путем измерения активности люциферазы, как описано в PCT/US17/52344.

Индукция экспрессии GFP, управляемой промотором NFAT. Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие контрольный вектор и SAR, совместно культивировали в течение 4-24 часов с клеточной линией, экспрессирующей антиген-мишень (описанной выше), и их способность связываться с антигеном-мишенью оценивали путем измерения индукции экспрессии GFP с применением проточной цитометрии. Клеточную надосадочную жидкость собирают и анализируют на индукцию цитокинов (например, IL2).

Индукция экспрессии GFP, управляемой промотором NFAT.

Конструировали ряд различных одноцепочечных и многоцепочечных SAR-конструкций на разных каркасах (например, SAR 2-го поколения, двухцепочечный SIR, полтороцепочечный SIR и т.п.), нацеленных на разные антигены. В то время как некоторые конструкции нацелены на один антиген, другие нацелены на более чем один антиген или два разных эпитопа одного антигена.

Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие контрольный вектор и SAR, совместно культивировали в течение 4-24 часов с клеточной линией, экспрессирующей антиген-мишень (описанной выше), и их способность связываться с антигеном-мишенью оценивали путем измерения индукции экспрессии GFP с применением проточной цитометрии. Клеточную надосадочную жидкость собирают и анализируют на индукцию цитокинов (например, IL2).

JNG (клетки Jurkat, экспрессирующие EGFP под промотором NFAT) инфицировали

лентивирусными векторами, кодирующими различные одноцепочечные и многоцепочечные SAR, путем спин-фекции в присутствии 8 мкг/мл Polybrene® (Sigma, кат. № H9268). Клетки Jurkat-NFAT-GFP сконструированы таким образом, что промотор IL-2, который несет сайты связывания NFAT, клонирован выше гена GFP. Эти клетки использовались для изучения передачи сигналов через TCR и CAR. Различные SAR стабильно экспрессировались в клетках Jurkat NFAT-GFP посредством переноса генов, опосредованного лентивирусами, с последующей селекцией с помощью пурамицина или бластицидина. В случае отсутствия в конструкции гена устойчивости к антибиотикам отбор по чувствительности к лекарственному средству не использовали. Клетки Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие SAR, совместно культивировали с клетками-мишенями при соотношении E:T приблизительно 1:2 в течение приблизительно от 4 до 18 часов. Когда взаимодействие между SIR и их антигеном-мишенью приводит к активации пути NFAT, индуцируется экспрессия GFP. Следовательно, клетки Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующие SAR, демонстрируют повышенные уровни экспрессии GFP, когда они взаимодействуют с линиями клеток-мишеней, экспрессирующими рецептор для SIR. Индукцию экспрессии GFP путем совместного культивирования клеток Jurkat-NFAT-GFP, экспрессирующих разные конструкции SIR, и разные клетки-мишени изучали по существу, как описано ранее (Wu, Roybal, Puchner, Onuffer, & Lim, 2015). Экспрессию GFP контролировали с помощью анализа FACS. В качестве контроля использовали клетки Jurkat-NFAT-GFP (родительские). Результаты с различными SAR суммированы в представленных ниже сводных таблицах. Структуру различных конструкций можно определить по их названиям. Например, конструкция CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-Spe-IgHSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-Mlu-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC имеет следующие модули по направлению от 5' к 3': сигнальный пептид CD8 (CD8SP), фрагмент vL hu-mROO5-1, нацеленный на CD19 (CD19-hu-mROO5-1), сайт клонирования XhoI, константная цепь TCRA человека, содержащая мутации CSDVP (hTCRa-CSDVP), сайт расщепления фурином (F), последовательность проскока рибосомы F2A (F2A), сайт SpeI, сигнальный пептид IgH человека (IgHSP), сайт рестрикционного фермента Apa I, модуль CD20-2HCD25-VHH верблюда, нацеленный на CD20, сайт рестрикционного фермента BamHI, Glycinex4-сериновый линкер (G4S), сайт рестрикционного фермента BstI, фрагмент CD19-hu-mROO5-1-vH, нацеленный на CD19, сайт рестрикционного фермента Mlu I, Константная цепь TCRb человека, содержащая мутации KACIAH ([hTCRb-KACIAH]), сайт расщепления фурином (F), последовательность проскока рибосомы P2A и ген устойчивости к пурамицину (PAC). Последовательность других конструкций в таблице может быть аналогичным образом

определена по их названиям и путем обращения к различным таблицам настоящего раскрытия, в которых указаны названия и SEQ ID NO различных модулей. В качестве альтернативы состав и модульная архитектура различных SAR-конструкций могут быть определены по их последовательностям с помощью биоинформатических инструментов, в том числе с применением поиска гомологии нуклеиновых кислот и аминокислот. SAR считается положительным в анализе, если SAR, экспрессирующие клетки Jurkat-NFAT-GFP, показывают больший % GFP-положительных клеток при культивировании с линией клеток-мишеней по сравнению с родительскими клетками Jurkat-NFAT-GFP. Знаки +/-, +, 2+ и т.п. после названия клеточных линий указывают на относительную степень положительности в анализе Jurkat-NFAT-GFP, измеренную по % GFP-положительных клеток после культивирования SAR-экспрессирующих клеток Jurkat-NFAT-GFP, который выше % клеток GFP, наблюдаемых в родительских клетках Jurkat NFAT-GFP, служащих в качестве контролей. В общем, числа +/-, +, 2+, 3+, 4+, 5+ относятся примерно к 5%, 10%, 20%, 30%, 40% и 50% GFP-положительных клеток. Процент индукции GFP в приведенном выше анализе зависит не только от относительной силы SAR, но также, помимо других факторов, от относительного уровня экспрессии SAR в клетках JNG и относительного уровня экспрессии антигена-мишени в целевой клеточной линии. Чтобы контролировать разницу в эффективности генной трансдукции различных SAR-конструкций, был проведен эксперимент с клетками JNG, трансдуцированными конструкциями SAR, коэкспрессирующими ген лекарственной устойчивости (например, пурамицин или PAC), с последующим отбором лекарств для получения стабильной популяции SAR-экспрессирующие клетки. Следует отметить, что ген лекарственной устойчивости (например, PAC) в конструкциях SAR является необязательным, и исследования *in vivo* проводились с конструкциями SAR, в которых отсутствовал ген PAC.

МОНОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ, БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ И ДВУХПАРАТОПНЫЕ ОДНОЦЕПОЧЕЧНЫЕ SAR НА КАРКАСЕ CAR 2-ГО ПОКОЛЕНИЯ

Был создан ряд моноспецифичных, биспецифичных и бипаратопных конструкций на каркасе CAR 2-го поколения (BBz) с костимулирующим доменом 4-1BB (BB) и активационным доменом CD3z (z). Эти конструкции, как правило, содержали сигнальный пептид CD8 (CD8SP) и шарнирный и трансмембранный домен CD8 (CD8TM). Они также содержали эпитопную метку Мус, которая была вставлена выше области CD8TM. Антигенсвязывающий(ие) домен(ы) этих конструкций включал(и) один или несколько AABD на основе одиночных доменов vH (SVH), включая домены FHVH, aVH, chVH.

Антигенсвязывающие домены другой конструкции включали AABD на основе доменов vHH, происходящих от верблюдовых. Примерная конструкция с одним AABD на основе FHVH представлена SEQ ID NO: 21907. Примерная конструкция с одним AABD на основе vHH представлена SEQ ID NO: 21908. Примерная бипаратопная конструкция с двумя тандемными FHVH, нацеленными на два эпитопа BCMA, представлена SEQ ID NO: 21904. Примерная конструкция с двумя тандемными FHVH, нацеленными на одни и те же эпитопы BCMA, представлена SEQ ID NO: 21903. Примерная конструкция, нацеленная на два разных антигена (BCMA и CD22), представлена SEQ ID NO: 21910. Примерная конструкция, содержащая одиночный домен vH человека на остоле chVH, представлена SEQ ID NO: 21918. Примерная биспецифическая конструкция, содержащая домен vHH и домен FVHV, представлена SEQ ID NO: 21912.

Примерная конструкция, содержащая BCMA-FHVH-93, присоединенный к N-концу нацеленного на CD19 scFv (MOR0028-scFv) через линкер G4s, представляет собой CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-CD19-MOR0028-scFv-hCD8TM-BBZ-T2A-PAC (SEQ ID NO: 21946). Аналогично, конструкция CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-Her2-huMab-4D5-H91A-D98A-F100A-Y102V-hCD8TM-BBZ-T2A-PAC (SEQ ID NO: 21947) comprises BCMA-FHVH-93, присоединенный к N-конец scFv, нацеленного на Her2, через линкер G4s.

Конструкции тестировали в анализе JNG. Как показано в Таблице 41, почти все конструкции индуцировали экспрессию GFP при совместном культивировании с клеточными линиями, экспрессирующими их антиген(ы)-мишень(и), но не проявляли индукции GFP спонтанно или при совместном культивировании с клеточными линиями, в которых отсутствовала экспрессия их антигенов-мишеней. Эти результаты демонстрируют, что функциональные односпецифичные, биспецифичные и бипаратопные SAR-конструкции могут быть сконструированы с одним или несколькими AABD, которые соединены с помощью необязательных коротких линкеров G4S. Результаты дополнительно демонстрируют отсутствие тонической передачи сигналов при самоактивации или нарушение передачи сигналов, когда два или более AABD соединяются в рамке считывания для создания SAR-конструкций. Некоторые из нацеленных на CD38 конструкций продемонстрировали индукцию GFP при экспрессии в клетках JNG (т.е. самоактивацию) без экспонирования линии клеток-мишеней. Однако это, вероятно, было связано с экспрессией антигена CD38 в клетках JNG. Результаты дополнительно демонстрируют, что AABD, принадлежащие к разным классам или каркасам (например, vHH, FHVH, chVH, aVH и т.п.), могут быть объединены в единую SAR-конструкцию без ущерба для их антигенсвязывающей способности из-за

неспецифической агрегации и/или стерических затруднений между разными доменами. Кроме того, биспецифичные конструкции, содержащие два AABD, принадлежащих к одному классу или к разным классам, не показали значительного снижения их способности индуцировать GFP в ответ на любой из отдельных антигенов по сравнению с моноспецифичными конструкциями. Таким образом, биспецифическая конструкция CD8SP-CD22-FHVN-24-PSMA71_{v2}-chVH-Myс-CD8TM-BBZ-T2A-PAC (SEQ ID NO: 21917) была несколько более эффективной в индукции GFP (+5,5) при воздействии PSMA-экспрессирующих клеток LNCaP по сравнению с моноспецифической конструкцией SAR (+4,5), представленной CD8SP-PSMA71-chVH-Myс-CD8TM-BBZ-T2A-PAC (SEQ ID NO: 21939). Однако SAR с SEQ ID NO: 21917 был способен эффективно индуцировать GFP при совместном культивировании с клетками RAJI, в которых отсутствует PSMA, но экспрессируется CD22.

Кроме того, эффективная индукция GFP против обоих антигенов-мишеней наблюдалась в конструкциях SAR (SEQ ID NO: 21946-21947), в которых AABD присоединен к N-концу scFv. Например, конструкция с SEQ ID NO: 21946 показала эффективную индукцию GFP при воздействии как клеток RAJI (CD19+BCMA+), так и клеток RAJI-CD19-KO (CD19-BCMA+), поскольку она была способна реагировать на последние клетки через домен BCMA-FHVN-93. Эти результаты продемонстрировали, что могут быть созданы SAR-конструкции, содержащие scFv и AABD (например, FHVN, vHN и т.п.), которые демонстрируют хорошие способности к экспрессии, связыванию антигена и передаче сигналов. Преимущество таких SAR-конструкций состоит в том, что доступно большое количество моноклональных антител против различных раковых антигенов, которые можно использовать для получения scFv для включения в SAR. Однако применение двух scFv для создания биспецифичных или бипаратопных SAR приводит к плохой экспрессии и нарушению передачи сигналов из-за неспецифической агрегации и тонической передачи сигналов, индуцированных агрегацией фрагментов vL/vH двух scFv. В данном раскрытии предлагается решение этой проблемы путем использования одного scFv в комбинации с одним или несколькими AABD для создания биспецифичных, бипаратопных и мультиспецифичных одноцепочечных SAR-конструкций. Таким образом, эти результаты демонстрируют, что функциональные одноцепочечные SAR с каркасами обычного (например, 2-го или 3-го поколения) одноцепочечного CAR могут быть получены путем присоединения в рамке считывания AABD к N-концу или вблизи N-конца scFv. Порядок фрагментов vL и vH в scFv в таких конструкциях может быть vL-vH или vH-vL.

Дополнительные примерные SAR-конструкции, содержащие один или несколько

AABD, нацеленных на разные антигены, присоединенные в рамке считывания к полинуклеотиду, кодирующему N-конец scFv hu-mROO5-1, нацеленного на CD19, посредством необязательного линкера, представлены SEQ ID NO: 4087, 4118- 4119, 4214 (NKG2D), 4245-4246, 4341 (RZip), 4595 (E4), 4753-4754 (CD16-V158), 4976 (CD19-vHH-048), 5070-5071 (BCMA-FHVH-33 x CD19 -vHH-048), 5265 (CD20-vHH-2HCD25), 5472 (CD123-vHH-2), 5720 (Her2-vHH-2D3), 5899 (CD22-FHVH-158 x Her3-Affi) и 6009 (IL13Ra2- huvHH-USC1-C1), соответственно. Описание AABD в приведенных выше конструкциях приведено в скобках после их соответствующих SEQ ID NO. Эти SAR-конструкции экспрессируются в клетках JNG и, как показано, индуцируют GFP при совместном культивировании с клеточными линиями, экспрессирующими антиген(ы)-мишень(и). Эксперимент проводят в отсутствие и в присутствии адаптеров SAR для конструкций, кодирующих домен связывания адаптера в качестве их AABD (например, SEQ ID NO: 4214, 4341, 4595, 4753-4754 и т.п.). Дополнительные SAR-конструкции, содержащие различные AABD, объединенные с scFv, могут быть сконструированы путем замены AABD вышеуказанных конструкций и протестированы с применением анализов, описанных в настоящей заявке.

Вышеупомянутые SAR-конструкции также экспрессируются в клетках JNG, в которых экспрессия константных цепей TCR α , TCR β или обоих была устранена путем нокаута гена, опосредованного CRISPR/Cas9. Замечено, что SAR-конструкции экспрессируются на поверхности клеток TCR α -/-, TCR β -/- и TCR α -/- β -/- на тех же уровнях, что и клетки JNG дикого типа, и обладают аналогичной сигнальной способностью при воздействии клетки, экспрессирующие антиген-мишень. По существу, аналогичные результаты получают, когда SAR-конструкции встраивают в геномные локусы TRAC или TRBC, так что они экспрессируются под промоторными и регуляторными элементами генов TCR α или TCR β . Вставка SAR-конструкций в локусы TRAC и TRBC, которая приводит к одновременному нарушению этих генов, достигается с помощью направленного воздействия на гены, как описано в Knipping F et al, *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*, Vol 4, 2017 и Eyquem J et al *Nature*, 543(7643):113-117, 2017, соответственно. Точно так же эндогенные гены TCR α , TCR β , TCR γ или TCR δ разрушаются в $\alpha\beta$ Т-клетках или $\gamma\delta$ Т-клетках с последующей экспрессией SAR с обычными каркасами CAR 2-го поколения. Наблюдается, что SAR на обычном каркасе 2-го поколения все еще экспрессируются и функционируют в клетках с элиминацией цепей TCR α , β , γ и/или δ .

В таблице 41 показана эффективная передача сигнала посредством ряда моноспецифичных и биспецифичных SAR-конструкций, нацеленных на новые антигены.

Примеры моноспецифичных конструкций, нацеленных на CEA, CSPG4 и PSMA, представлены SEQ ID NO: 21927, 21945 и 21939, соответственно. Эти SAR-конструкции можно использовать для лечения рака, экспрессирующего эти антигены. Точно так же биспецифичные SAR-конструкции, нацеленные на CD20 и CD22, BCMA и CD20, BCMA и CD22 и т.п., можно использовать для преодоления рецидива заболевания из-за потери одного антигена (ускользание антигена) на опухолевых клетках.

Таблица 41. Моноспецифические, биспецифические и двухпаратопные одноцепочечные SAR на каркасе CAR 2-го поколения

АНТИ-ГЕН-МИ-ШЕНЬ	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP (JNG)
BCMA, CD19	21901	22716	CD8SP-BCMA-FHVH-33-huCD19USC3-W103R-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (+/-), Nalm6 (+), L363 (3+), U266 (3+). RS411 (-)
BCMA, CD19	21902	22717	CD8SP-BCMA-FHVH-74-huCD19USC3-W103R-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (-), L363 (4+), U266 (4+). RS411 (-)
BCMA	21903	22718	CD8SP-BCMA-FHVH-33-BCMA-FHVH-33-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (4+), U266 (3.5+)
BCMA	21904	22719	CD8SP-BCMA-FHVH-33-BCMA-FHVH-74-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (4.5+), U266 (4+)
BCMA	21905	22720	CD8SP-BCMA-FHVH-74-BCMA-FHVH-33-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (4.5+), U266 (3.5+)
BCMA	21906	22721	CD8SP-BCMA-FHVH-74-BCMA-FHVH-74-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (1.5+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (+/-), L363 (5+), U266 (4.5+). RS411 (-)
BCMA	21907	22722	CD8SP-BCMA-FHVH-74-CD8TM-BBZ	L363 (+/-), U266 (+/-)
CD20	21908	22723	CD8SP-CD20vHH-CD8TM-BBZ	Raji (+/-), Nalm6 (+/-)
CD22, BCMA	21909	22724	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-33-CD8TM-BBZ	Raji (2+), Nalm6 (+), L363 (3+), U266 (1.5+). Daudi (1.5)
CD22, BCMA	21910	22725	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-74-CD8TM-BBZ	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), Daudi (+/-), L363 (+/-), U266 (+/-)
CD22, BCMA	21911	22726	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-93-CD8TM-BBZ	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), Daudi (+/-), L363 (+/-), U266 (+/-)
CD20, CD22	21912	22727	CD8SP-CD20vHH-G4S-CD22FHVH-CD8TM-BBZ	Raji (1.5+), Nalm6 (+/-), Daudi (+)
CEA	21913	22728	CD8SP-CEA300-3001-aVH-CD8TM-BBZ	HL60 (-), LoVo (+/-)

CD22, CEA	21914	22729	CD8SP-CD22-FHVVH-24-CEA3001-aVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2+), LoVo (4+)
CD22	21915	22730	CD8SP-CD22-FHVVH-24-CD22-FHVVH-158-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2+)
CD22, PSMA	21916	22731	CD8SP-CD22-FHVVH-24-PSMA28-chVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2+), LNCaP (5+)
CD22, PSMA	21917	22732	CD8SP-CD22-FHVVH-24-PSMA71v2-chVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2.5+), LNCaP (5.5+)
CD22, PSMA	21918	22733	CD8SP-CD22-FHVVH-24-PSMA28v2-chVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2.5+), LNCaP (6+)
CEA, BCMA	21919	22734	CD8SP-CEA300-aVH-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	LoVo (4+), L363 (5+)
CD20, BCMA	21920	22735	CD8SP-CD20vHH-C07-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2.5+), L363 (5+)
PSMA, BCMA	21921	22736	CD8SP-PSMA71-chVH-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	LNCaP (4+), L363 (5+)
PSMA, BCMA	21922	22737	IgHSP-PSMA28v2-chVH-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	LNCaP (4+), L363 (4+)
BCMA	21923	22738	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (5+)
CD20	21924	22739	CD8SP-CD20vHH-C07-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (3+)
PSMA	21925	22740	CD8SP-PSMA71-chVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	LNCaP (4.5+)
CD22, BCMA	21926	22741	CD8SP-CD22-FHVVH-24-BCMA-FHVVH-33-hCD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (2+), L363 (3.5+)
CEA	21927	22742	CD8SP-CEA300-aVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	LoVo (5+)
BCMA, CD38	21928	22743	CD8SP-BCMA-FHVVH-33-CD38-309407-FHVVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (+/-)
BCMA, CD38	21929	22744	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-CD38-309021-FHVVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (-)
BCMA, CD38	21930	22745	CD8SP-BCMA-FHVVH-33-CD38-986-FHVVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (-)
BCMA, CD38	21931	22746	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-CD38-986-FHVVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Самоактивация
BCMA	21932	22747	CD8SP-BCMA-FHVVH-33-BCMA-FHVVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (5+), U266 (4+), Nalm6 (+/-), RS411 (-)

CD22, BCMA	21933	22748	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-74-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (4+), U266 (4+), Nalm6 (+), RS411 (+)
CD22, BCMA	21934	22749	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (4+), Nalm6 (+), RS411 (+/-)
CD22, BCMA	21935	22750	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-33-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (5+), Nalm6 (+), RS411 (+)
BCMA	21936	22751	CD8SP-BCMA-FHVH-74-BCMA-FHVH-93-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (5+), Nalm6 (-), RS411 (-)
BCMA	21937	22752	CD8SP-BCMA-FHVH-74-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (5+)
CD20	21938	22753	CD8SP-CD20vHH-C07-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (3+)
PSMA	21939	22754	CD8SP-PSMA71-chVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	LNCaP (4.5+)
BCMA, CD38	21940	22755	CD8SP-BCMA-FHVH-33-CD38-309021-FHVH-Myc-CD8TM-BBZ-TA2-PAC	Самоактивация
CD22	21941	22756	CD8SP-CD22-FHVH-24-G4S-CD22-FHVH-158-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (1.5+), Nalm6 (+), RS411 (-)
BCMA	21942	22757	CD8SP-BCMA-FHVH-33-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	L363 (5.5+), RS411 (-)
BCMA, CD19	21943	22758	CD8SP-BCMA-FHVH-74-CD19-MOR0chVH-Myc-CD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (1.5+), Nalm6 (-), L363 (4+)
CSPG4	21944	22759	CD8SP-MCSP-aVH-58-Myc-CD8TM-BBZ-TA2-PAC	SK-MEL-28 (+)
CSPG4	21945	22760	CD8SP-MCSP-aVH-56-Myc-CD8TM-BBZ-TA2-PAC	SK-MEL-28 (1.5+)
BCMA, CD19	21946	22761	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-CD19-MOR0028-scFv-hCD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (3.5+), RS411 (5+)
BCMA, HER2	21947	22762	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-Her2-huMab-4D5-H91A-D98A-F100A-Y102V-hCD8TM-BBZ-T2A-PAC	Raji (3+), Nalm6 (+), L363 (4+), RS411 (-), SKOV-3 (7+), MCF-7 (2.5+), PC-3 (-)

Преимущество биспецифичных конструкций, нацеленных на антиген солидной опухоли и антиген, экспрессируемый на клетках крови (например, PSMA с CD20, PSMA и CD22 или PSMA и BCMA), заключается в обеспечении адекватного пролиферативного сигнала к клеткам SAR-T при введении пациенту за счет высокого уровня экспрессии гемопоэтических антигенов на клетках крови. Это потенциально может решить проблему отсутствия экспансии моноспецифичных SAR-конструкций, нацеленных на солидную опухоль.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ, БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ И БИПАРАТОПНЫЕ ОДНОЦЕПОЧНЫЕ SAR НА КАРКАСЕ TFP

Одноцепочечные рецепторы, содержащие scFv, объединенные с цепями CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , были описаны и известны как TFP ϵ , TFP γ и TFP δ , соответственно. Для создания SAR-конструкций, содержащих AABD, объединенных с внеклеточными, трансмембранными и цитоплазматическими доменами (ECDTMCP) CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ , был сконструирован ряд биспецифичных и бипаратопных конструкций. Названия, компоненты модулей AABD и SEQ ID NO этих конструкций представлены в Таблице 42. Компоненты AABD этих конструкций принадлежат к разным классам, таким как каркасы FHVH (например, SEQ ID NO: 21949-21955), avH (SEQ ID NO: 21951) и vHH (SEQ ID NO: 21963). Репрезентативные биспецифичные конструкции представлены SEQ ID NO: 21950-21953, а представленные бипаратопные конструкции представлены SEQ ID NO: 21949 и 21952. Конструкции клонировали в лентивирусные векторы и стабильно экспрессировали в клетках JNG, как описано выше. Клетки JNG, экспрессирующие SAR, тестировали в анализе NFAT-GFP при совместном культивировании с клеточными линиями, экспрессирующими антиген-мишень. В таблице 42 показана надежная индукция GFP почти всеми конструкциями SAR. Кроме того, % GFP, индуцированный биспецифичными конструкциями против определенного антигена (например, CD20), аналогичен % GFP, наблюдаемому при использовании моноспецифической конструкции, нацеленной на этот антиген и содержащей тот же антигенсвязывающий домен, тем самым демонстрируя отсутствие стерических затруднений из-за наличия более чем одного антигенсвязывающего домена. Эти результаты демонстрируют, что функциональные одноцепочечные SAR-конструкции с каркасами TFP ϵ , TFP δ и TFP γ могут быть созданы с применением AABD с каркасом из vHH и одиночных доменов vH, включая полностью человеческие одиночные домены vH. Результаты дополнительно демонстрируют, что функциональные одноцепочечные биспецифичные и бипаратопные SAR с каркасами TFP ϵ , TFP δ и TFP γ могут быть получены с применением AABD, содержащих одиночные домены vH, включая полностью человеческие домены vH. Результаты дополнительно демонстрируют, что функциональные биспецифичные и бипаратопные SAR с каркасами TFP ϵ , TFP δ и TFP γ могут быть созданы с применением комбинации AABD, принадлежащих к разным классам (например, FHVH и vHH и т.п.).

Дополнительные примерные SAR-конструкции с каркасами TFP и содержащие один или несколько AABD представлены SEQ ID NO: 6495-6497 (CD22-FHVH-24 x PSMA-chVH-71v2), 6641-6643 (CD22-FHVH-24 x CD19-FHVH-354), 6714-6716 (CD22-FHVH-24 x BCMA-FHVH-74), 6933-6935 (CEA-avH-300 x BCMA-FHVH-93). Типичные

биспецифичные, бипаратопные и мультиспецифичные SAR-конструкции с каркасами TFP и содержащие один или несколько AABD, которые присоединены в рамке считывания к N-концу кодируемого гуманизованного hu-mROO5-1 scFv, нацеленного на CD19, представлены SEQ ID NO: 5004-5006 (CD19-vHH-048), 5252-5254 (CD38-FHVN-309021), 5346-5348 (BCMA-FHVN-33 x CD38-FHVN-309021), 5594-5596 (BCMA-FHVN-33 x CD123-vHH-2), 4237-4239 (NKG2D x NKG2D), 4364-4367 (RZip), 4491-4493 (E4) и 4745-4747 (CD16A-V158), соответственно. Названия AABD показаны в скобках после их SEQ ID NO. Эти SAR-конструкции могут быть экспрессированы в клетках JNG, и показано, что они индуцируют GFP при совместном культивировании с клеточными линиями, экспрессирующими антиген(ы)-мишень(и). Эксперимент проводят в отсутствие и в присутствии адаптеров SAR для конструкций, кодирующих домен связывания адаптера в качестве одного из их AABD (например, SEQ ID NO: 4364, 4341, 4491, 4745 и т.п.). Дополнительные SAR-конструкции, содержащие различные AABD, объединенные с scFv, могут быть сконструированы путем замены AABD вышеуказанных конструкций и протестированы с применением анализов, описанных в настоящей заявке. Эти результаты можно использовать в поддержку аргумента о том, что функциональные одноцепочечные SAR с каркасами TFP ϵ , γ и δ могут быть получены путем присоединения в рамке считывания AABD к N-концу или вблизи N-конца scFv. Порядок фрагментов vL и vH в scFv в таких конструкциях может быть vL-vH или vH-vL.

Вышеупомянутые SAR-конструкции на каркасах TFP также экспрессируются в клетках JNG, в которых экспрессия TCR α , TCR β или обеих была устранена путем нокаута гена, опосредованного CRISPR/Cas9. В отличие от результатов с SAR на обычном каркасе CAR 2-го поколения, наблюдалось, что SAR-конструкции на каркасах TFP не экспрессируются эффективно на поверхности TCR α -/-, TCR β -/- и TCR α -/- β -/- клеток на уровне, аналогичном наблюдаемому в клетках JNG дикого типа, и имеют плохую сигнальную способность при воздействии на клетки, экспрессирующие антиген-мишень. Замечено, что коэкспрессия константной цепи TCR α может восстанавливать экспрессию SAR на каркасе TFP в клетках, в которых экспрессия эндогенной цепи TCR α нарушена или устранена. Примерная конструкция для совместной экспрессии экзогенной константной цепи TCR α представлена в SEQ ID NO: 23331. Точно так же наблюдается коэкспрессия константной цепи TCR β для восстановления экспрессии SAR на каркасе TFP в клетках, в которых эндогенная цепь TCR β была элиминирована или нарушена. Примерная конструкция для коэкспрессии экзогенной константной цепи TCR β представлена в SEQ ID NO: 23332. Наконец, наблюдается, что коэкспрессия константных цепей TCR α и TCR β достаточна для восстановления экспрессии SAR на каркасе TFP в $\alpha\beta$

Т-клетках, в которых нокаутированы как TCR α , так и TCR β . Альтернативно наблюдалось, что совместная экспрессия константных цепей как TCR γ , так и TCR δ может также восстанавливать экспрессию SAR на каркасе TFP в $\alpha\beta$ Т-клетках, в которых была устранена экспрессия эндогенных константных цепей TCR α и/или TCR β . Примеры конструкций для экспрессии цепей TCR γ и TCR δ представлены в SEQ ID NO: 23333 и 23334, соответственно. Точно так же коэкспрессия константных цепей TCR α и TCR β также может восстанавливать экспрессию SAR на каркасе TFP в $\gamma\delta$ Т-клетках, в которых была устранена экспрессия эндогенных константных цепей TCR γ и/или TCR δ .

По существу аналогичные результаты получают, когда SAR-конструкции встраивают в геномные локусы TRAC или TRBC, так что они экспрессируются под промоторными и регуляторными элементами эндогенных генов TCR α или TCR β . Вставка SAR-конструкций в локусы TRAC и TRBC, которая приводит к одновременному нарушению этих генов, достигается с помощью направленного воздействия на гены, как описано в Knipping F et al, *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*, Vol 4, 2017 и Eyquem J et al *Nature*, 543(7643):113-117, 2017, соответственно. Примерная конструкция для направленного воздействия представлена SEQ ID NO: 23329. SAR на каркасе TFP демонстрируют нарушенную экспрессию на поверхности Т-клеток и сниженную или отсутствующую активность (например, активацию Т-клеток, пролиферацию, продуцирование цитокинов и цитотоксичность и т.п.) в Т-клетках, когда их экспрессия направлена на locus TRAC, по сравнению с тем, когда они экспрессируются с применением лентивирусных векторов. Затем проверяется, можно ли использовать экспрессию константной цепи TCR α (цепь TRAC) для восстановления экспрессии и сигнальной активности SAR на каркасе TFP в Т-клетках, в которых эндогенный геномный locus TRAC был разрушен экспрессирующей кассетой SAR. Для этой цели конструируют конструкцию направленного воздействия, коэкспрессирующую TFP с дополнительным модулем, кодирующим константную цепь TCR α с аминоконцевым сигнальным пептидом (IgSP). Дополнительный модуль отделен от кодирующей последовательности SAR линкером Fugine-SGSG-P2A. Нуклеотидная последовательность типичной конструкции направленного воздействия, коэкспрессирующей константную цепь TCR α , с иллюстративными конструкциями SAR на каркасе TFP, нацеленными на BCMA и CD22, показана в SEQ ID NO: 23330. Нуклеотидная последовательность константной цепи TCR α в этой конструкции оптимизирована по кодонам и отличается от эндогенной константной цепи TCR α своей нуклеотидной последовательностью. В альтернативном воплощении цепь TRAC оптимизирована по кодонам и содержит аминокислотные замены (например, SEQ ID NO: 1044, 1047), которые, как известно, усиливают экспрессию константной цепи

TCR α человека или спаривания ее оснований с экзогенно экспрессируемой цепью TCR β . Экзогенный TRAC может экспрессироваться в Т-клетках либо сам по себе (SEQ ID NO: 23331), либо может совместно экспрессироваться с экспрессирующими кассетами TFP с применением одного вектора.

Клетки, экспрессирующие SAR-конструкции, экспонируют клеткам-мишеням RAJI и L363 и тестируют в функциональных анализах, как описано выше. Т-клетки, в которых конструкция для направленного воздействия включает SAR на каркасе TFP, коэкспрессирующий константную цепь TCR α (SEQ ID NO: 23330), демонстрируют лучшую экспрессию SAR на клеточной поверхности по сравнению с Т-клетками, в которых SAR-конструкция на каркасе TFP отдельно (SEQ ID NO: 23329) (т.е. без коэкспрессии экзогенной цепи TRAC) направлена на локус TRAC. Кроме того, Т-клетки, на которые нацелена конструкция для направленного воздействия с SEQ ID NO: 23330, демонстрируют более высокую пролиферацию, активацию, продуцирование цитокинов (например, IL2 и TNF α), цитотоксичность, размножение *in vivo*, противоопухолевую активность *in vivo* в отношении клеток-мишеней по сравнению с Т-клетками, на которые направлена конструкция с SEQ ID NO: 23329. Также наблюдалось, что совместная экспрессия константных цепей как TCR γ , так и TCR δ может также восстанавливать экспрессию SAR на каркасе TFP в $\alpha\beta$ Т-клетках, в которых экспрессия эндогенных константных цепей TCR α и/или TCR β была устранена путем вставки экспрессирующей кассеты SAR в эндогенных локусах TRAC и/или TRBC. Примеры конструкций для экспрессии цепей TCR γ и TCR δ представлены в SEQ ID NO: 23333 и 23334, соответственно.

Таблица 42. Моноспецифические, биспецифические и двухпаратопные одноцепочечные SAR на каркасе TFP				
АНТИ-ГЕН-МИ-ШЕНЬ	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
CD22	21949	22764	CD8SP-CD22-FHVH-24-G4S-CD22-FHVH-158-G4S-CD3dECDTMCP-2A-Pac	Raji (1.5+), Nalm6 (+/-)
CD22, BCMA	21950	22765	CD8SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-33-G4S-CD3dECDTMCP-2A-Pac	Raji (1.5+), L363 (1.5+)
CEA	21951	22766	CD8SP-CEA300-aVH-G4S-CD3dECDTMCP-2A-Pac	LoVo (2+)
CD22	21952	22767	SP-CD22-FHVH-24-G4S-CD22-FHVH-158-G4S-CD3eECDTMCP-	Raji (+), Nalm6 (+/-)

			2A-Pac	
CD22, BCMA	21953	22768	SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-33-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	Raji (+), L363 (+/-)
CD22	21954	22769	SP-CD22-FHVH-24-CD22-FHVH-158-G4S-CD3dECDTMCP-2A-Pac	Raji (+), Nalm6 (+/-)
CD22, BCMA	21955	22770	SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-74-G4S-CD3dECDTMCP-2A-Pac	Raji (1.5+), L363 (2+)
CEA	21956	22771	SP-CEA300-aVH-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	LoVo (2.5+)
CD22	21957	22772	SP-CD22-FHVH-24-CD22-FHVH-158-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	Raji (+), Nalm6 (+/-)
CD22, BCMA	21958	22773	SP-CD22-FHVH-24-BCMA-FHVH-74-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	Raji (1.5+), L363 (+)
BCMA, CD38	21959	22774	SP-BCMA-FHVH-74-CD38-309021-FHVH-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	L363 (2.5+)
BCMA, CD38	21960	22775	SP-BCMA-FHVH-33-CD38-986-FHVH-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	L363 (2.5+)
BCMA, CD38	21961	22776	SP-BCMA-FHVH-74-CD38-986-FHVH-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	L363 (2.5+)
BCMA, CD38	21962	22777	SP-BCMA-FHVH-33-CD38-309021-FHVH-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	L363 (2.5+)
CD20, CD22	21963	22778	CD20-vHH-C07-G4S-CD22-FHVH-158-G4S-CD3eECDTMCP-2A-Pac	Raji (2.5+), Nalm6 (+/-)

ПОЛУЧЕНИЕ МОНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ, БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ И БИПАРАТОПНЫХ SAR НА ПОЛУТОРА- И ДВУХЦЕПОЧЕЧНЫХ КАРКАСАХ SIR

Синтетический иммунный рецептор (SIR) представляет собой CAR-платформу следующего поколения, описанную в WO 2018102795, которая обеспечивает физиологическую передачу сигналов Т-клетками за счет вовлечения эндогенного сигнального комплекса TCR. В одной конфигурации двухцепочечный SIR обычно содержит два полипептида, каждый из которых содержит антигенсвязывающий домен (например, vL или vH и т.п.), присоединенный к константной цепи TCR (например, C α и C β или C γ и C δ). Домены vL и vH двухцепочечного SIR соединяются с образованием Fv, который может связываться с антигеном-мишенью. Полуторацепочечный SIR содержит антигенсвязывающий домен (например, scFv), присоединенный в рамке считывания к одной константной цепи TCR, которая коэкспрессируется с комплементарной второй константной цепью TCR, в которой отсутствует антигенсвязывающий домен. Было создано несколько биспецифичных конструкций SIR, в которых нуклеотиды, кодирующие два scFv, были присоединены к двум константным цепям TCR. Например, в SAR-конструкции с SEQ ID NO (DNA): 21974 и SEQ ID NO (PRT): 22789 кодируемый scFv,

нацеленный на CD19, полученный из гуманизированного моноклонального антитела против CD19 (hCD19-Bu12), объединен в рамке считывания с мутантной цепью TCR β (hTCR β -KACIAH), а кодируемый scFv, нацеленный на CD123 (CD123-CSL362), присоединен к комплементарной мутированной цепи TCR α человека (hTCR α -CSDVP). Полученная конструкция экспрессировалась в клетках JNG, но было обнаружено, что они не реагируют против клеток-мишеней, экспрессирующих CD19 (например, Raji) и CD123 (Bv173) (таблица 43). Аналогично, биспецифическая конструкция SIR, представленная SEQ ID NO: 21975, кодирует MPL, нацеленный на scFv (MPL-175), присоединенный в рамке через промежуточный линкер с scFv hCD19-Bu12, который, в свою очередь, присоединен к мутантной цепи TCR α человека (hTCR α -CSDVP) через линкер MYC-метки. Кодируемая цепь TCR β (hTCR β -KACIAH) в этой конструкции не имеет антигенсвязывающего домена, но несет метку V5. Было также обнаружено, что эта конструкция проявляет лишь слабую активность против CD19-экспрессирующих клеток Raji и Nalm6, что было измерено с помощью анализа JNG. Клетки JNG, экспрессирующие эту конструкцию, также демонстрировали маргинальную индукцию GFP при совместном культивировании с экспрессирующими MPL клетками HEL 92.1.7 (таблица 43). В конструкциях, представленных SEQ ID NO: 21981 и 21982, кодируемые два фрагмента vL соединены тандемно через линкер E-спирали, а затем присоединены в рамке считывания к одной константной цепи TCR, тогда как два фрагмента vH соединены тандемно через линкер K-спирали, а затем присоединены к комплементарной цепи TCR. Конструкция с SEQ ID NO: 21981 не показала активности индукции GFP в анализе JNG, в то время как конструкция с SEQ ID NO: 21982 показала активность от легкой до умеренной. Было создано несколько дополнительных биспецифических и бипаратопных конструкций на двухцепочечных или полутороцепочечных каркасах SIR, кодирующих два или более фрагментов vL, vH или scFv, соединенных с помощью различных линкеров и в различных конфигурациях, и протестированных в анализе JNG. Эти конструкции, как правило, демонстрировали слабую и/или непостоянную индукцию GFP при экспрессии в клетках JNG по сравнению с соответствующими двухцепочечными (double chain, DC) или полутороцепочечными (one-and-half-chain, OAH) моноспецифическими конструкциями, кодирующими один vL, vH или scFv на конструкцию. Результаты для нескольких примерных конструкций представлены в Таблице 43. Эти результаты демонстрируют, что присутствие более чем одного vL, vH или scFv в двухцепочечном или полутороцепочечном каркасе SIR приводит к плохой и/или непоследовательной экспрессии и/или сигнальной активности.

Таблица 43. Моноспецифические, биспецифические и двухпаратопные SAR на каркасе полторацепочечных и двухцепочечных SIR				
АНТИГЕН	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
CD19, CD123	21974	22789	hCD19-Bu12(vL-vH)-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-CD123-CSL362-(vL-vH)-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (-), Bv173 (-)
MPL, CD19	21975	22790	SP-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-MPL-175-scFv-EAAAK-hCD19-Bu12-scFv-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (+), HEL 92.1.7 (+/-)
CS1, CD19	21976	22791	SP-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-HuLuc64-EAAAK-hCD19-Bu12-scFv-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (2+), L363 (+), U266 (1.5+)
CD19, CD20	21977	22792	SP-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-hCD19-Bu12-EAAAK-CD20-2F2-scFv-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (+)
CD19, CD20	21978	22793	SP-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-huFMC63-11-EAAAK-CD20-2F2-scFv-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (2+)
CS1, CD19	21979	22794	SP-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-HuLuc64-EAAAK-FMC64-scFv-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (+), L363 (+), U266 (1.5+)
CD19, CS1	21980	22795	hCD19-Bu12-V5-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-huLuc64-scFV-MYC-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (+/-), L363 (+/-), U266 (+)
CD19, CD19	21981	22796	SP-FMC63-vL-Ecoil-MOR0028-vL-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-IgH-SP-FMC63-vH-Kcoil-MOR0028-vH-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (-), Nalm6 (-)
CD19, CD22	21982	22797	SP-FMC63-vL-Ecoil-CD22-5-vL-[hTCRα-CSDVP]-F-F2A-SP-FMC63-vH-Kcoil-CD22-5-vH-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (+), Bv173 (+)

ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПЫТАНИЯ НЕСПЕЦИФИЧНЫХ, БИСПЕЦИФИЧЕСКИХ И БИПАРАТОПНЫХ ДВУХЦЕПОЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, ВКЛЮЧАЮЩИХ AABD

Далее приблизительно 100 двухцепочечных конструкций, кодирующих AABD, создали и экспрессировали в клетках JNG. Эти конструкции кодируют множество антигенсвязывающих доменов. SEQ ID (DNA) и SEQ ID (PRT) представлены в Таблице 44. В конструкциях с SEQ ID NO: 21985-21997, 22007-22008, 22011-22016 кодируемый FVHV присоединен к константной цепи TCRβ (hTCRβ-S57C), а кодированный второй

FHVH присоединен к комплементарной константной цепи TCR α [hTCR α -T48C-opt]. Например, в примерной конструкции с SEQ ID NO: 21985 кодируемый CD22-FHVH-24 присоединен к hTCR β -S57C, а BCMA-FHVH-93 присоединен к hTCR α -T48C-opt. Все эти конструкции не проявляли значительной активности в анализе JNG при экспрессии в клетках JNG и совместном культивировании с клеточными линиями, экспрессирующими антиген-мишень (таблица 44). Замена домена FHVH другим AABD (например, vHH или aVH) не приводила к улучшению активности. Также было создано несколько моноспецифичных и биспецифичных полуторацепочечных конструкций, представленных SEQ ID NO: 21999-22000, 22002-22006 (таблица 44). Репрезентативной конструкцией этой серии является CD8SP-V5-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-CD8SP-BCMA-FHVH-74-MYC-[hTCR α -CSDVP]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22002). В этой конструкции кодируемый BCMA-FHVH-74 присоединен через линкер MYC к цепи [hTCR α -CSDVP], тогда как линкер V5 присоединен к кодируемой комплементарной цепи [hTCR β -KACIAH]. Эти конструкции также проявляли лишь слабую и непостоянную активность при экспрессии в клетках JNG. Другая испытанная конструкция включала присоединение двух AABD в тандеме к одной из двух константных цепей TCR и представлена SEQ ID NO: 22009 и 22010. Конструкции с таким дизайном также проявляли лишь слабую и непостоянную активность (Таблица 44). Затем были созданы конструкции, в которых одна или обе константные цепи TCR были укорочены. Кроме того, были протестированы различные линкерные домены между AABD и доменами константной цепи TCR. Примеры линкеров включали линкеры Gly-Ser (GS), домены E-спирали, PG4SP и Ig-шарнира (таблица 17). Примеры конструкций представлены SEQ ID NO: 22025-22085. Эти конструкции экспрессировали в клетках JNG и тестировали в анализе JNG. Конструкции с этим дизайном также, в целом, проявляли только слабую и/или непостоянную активность по сравнению с соответствующими одноцепочечными конструкциями на каркасах CAR или TFR 2-го поколения (таблица 44).

Таблица 44. Биспецифические и двухпаратопные двухцепочечные конструкции			
АНТИГЕН	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	АНАЛИЗ NFAT-GFP
CD22, BCMA	21985	22800	L363 (1.5+), Nalm6 (+/-), RS411 (-)
CD22, BCMA	21986	22801	L363 (+), Nalm6 (+/-), RS411 (-)
CD22, BCMA	21987	22802	L363 (+), Nalm6 (+/-), RS411 (-)
BCMA, BCMA	21988	22803	L363 (+), Nalm6 (-), RS411 (-)
BCMA, BCMA	21989	22804	L363 (+), Nalm6 (-), RS411 (-)

BCMA, BCMA	21990	22805	L363 (+), Nalm6 (-), RS411 (-)
BCMA, BCMA	21991	22806	L363 (1.5+), Nalm6 (-), RS411 (-)
CD22, PSMA	21992	22807	Raji (+/-), Nalm6 (-), LNCaP (2+)
CD22, CD22	21993	22808	Raji (+/-)
BCMA, CD38	21994	22809	L363 (+)
CD22, CD38	21995	22810	Raji (+), L363 (-)
BCMA, CD38	21996	22811	L363 (+)
CD38, BCMA	21997	22812	Самоактивация (SA), L363 (+), RS411 (-)
CD38, BCMA	21998	22813	L363 (+)
CD38, CD38	21999	22814	L363 (-), RS411 (-)
CD38, CD38	22000	22815	L363 (-), RS411 (-)
CD22, BCMA	22001	22816	Raji (+/-), L363 (-)
BCMA	22002	22817	L363 (+), U266 (+)
CD22, BCMA	22003	22818	Raji (+), Nalm6 (+/-), Daudi (+/-), L363 (+),
CD22, BCMA	22004	22819	Raji (+), Nalm6 (+/-), Daudi (+/-), L363 (+)
CEA	22005	22820	HL60 (-), LoVo (+/-)
CD20	22006	22821	Raji (+), Nalm6 (-)
CD22, CEA	22007	22822	Raji (+/-), Nalm6 (-), RS411 (-), LoVo (+/-)
CD22, CD38	22008	22823	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (-), RS411 (-)
CD38, CD38	22009	22824	L363 (+/-)
CD38, CD38	22010	22825	L363 (-)
CD22, CD22	22011	22826	Raji (+/-), Nalm6 (-), RS411 (-)
CD38, BCMA	22012	22827	L363 (+), RS411 (+/-)
CD22, CD38	22013	22828	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-), RS411 (-)
BCMA, CD38	22014	22829	L363 (+/-), RS411 (-)
CD38, BCMA	22015	22830	L363 (-), RS411 (-)
CD38, BCMA	22016	22831	L363 (+/-), RS411 (-)
CD22, PSMA	22017	22832	Raji (+/-), Nalm6 (-), RS411 (-), LNCaP (-)
CEA, PSMA	22018	22833	LNCaP (+/-), LoVo (+/-)
CD22, BCMA	22019	22834	Raji (+), Nalm6 (+/-), L363 (+), RS411 (-)
CD22, CD22	22020	22835	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (-)
CD22, BCMA	22021	22836	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (+/-)
PSMA, PSMA	22022	22837	LNCaP (1.5+)
CEA	22023	22838	LoVo (-)
CD22, CD22	22024	22839	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22025	22840	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+)
CD22, PSMA	22026	22841	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22027	22842	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22028	22843	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22029	22844	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22030	22845	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22031	22846	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22032	22847	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22033	22848	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (-), LNCaP (-)
CD22, BCMA	22034	22849	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+/-)

CD22, CD22	22035	22850	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (+/-)
CD22	22036	22851	Raji (-), Nalm6 (-), Daudi (-)
CD22, BCMA	22037	22852	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22038	22853	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22039	22854	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22040	22855	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22041	22856	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (+)
CD22, PSMA	22042	22857	Raji (-), Nalm6 (-), LNCaP (+/-)
CD22, PSMA	22043	22858	Raji (+/-), Nalm6 (-), LNCaP (+)
CD22, PSMA	22044	22859	Raji (-), Nalm6 (-), LNCaP (+/-)
CD22, PSMA	22045	22860	Raji (-), Nalm6 (-), LNCaP (+/-)
CD22, BCMA	22046	22861	Raji (2+), Nalm6 (+/-), L363 (+)
CD22, BCMA	22047	22862	Raji (1.5+), Nalm6 (+/-), L363 (+/-)
BCMA, BCMA	22048	22863	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (+/-)
CD22, BCMA	22049	22864	Raji (1.5+), Nalm6 (+/-), L363 (+/-)
BCMA, BCMA	22050	22865	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (+/-)
CD22, BCMA	22051	22866	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+/-)
CD22, BCMA	22052	22867	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+/-)
CD22, PSMA	22053	22868	Raji (-), Nalm6 (-), LNCaP (+)
CD22, PSMA	22054	22869	Raji (-), Nalm6 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22055	22870	Raji (+/-), Nalm6 (-), LNCaP (+)
CD22, PSMA	22056	22871	Raji (+/-), Nalm6 (-), LNCaP (-)
CD22, PSMA	22057	22872	Raji (+/-), Nalm6 (-), LNCaP (+)
CD22, PSMA	22058	22873	Raji (+/-), LNCaP (+)
CD22, PSMA	22059	22874	Raji (+/-), LNCaP (+)
CD22, BCMA	22060	22875	Raji (2+), Nalm6 (+/-), L363 (2+)
BCMA, BCMA	22061	22876	L363 (2+)
BCMA, BCMA	22062	22877	L363 (+/-)
BCMA, BCMA	22063	22878	L363 (+/-)
BCMA, BCMA	22064	22879	L363 (+/-)
BCMA, BCMA	22065	22880	L363 (-)
CD22, BCMA	22066	22881	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (+/-), RS411 (-)
CD22, BCMA	22067	22882	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (+), RS411 (-)
CD22, BCMA	22068	22883	Raji (+), Nalm6 (+/-), L363 (+), RS411 (+/-)
CD22, BCMA	22069	22884	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (-), RS411 (-)
BCMA, CD19	22070	22885	Raji (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (+/-), RS411 (-)
BCMA, BCMA	22071	22886	L363 (2.5+), RS411 (-)
CD22, BCMA	22072	22887	Raji (+), Nalm6 (+/-), L363 (+), RS411 (-)
CD22, BCMA	22073	22888	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+/-), RS411 (-)
BCMA, BCMA	22074	22889	L363 (2.5+), RS411 (-)
BCMA, BCMA	22075	22890	L363 (+/-), RS411 (-)
CD22, BCMA	22076	22891	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+)
CD22, BCMA	22077	22892	Raji (-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22078	22893	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+/-)
PSMA, PSMA	22079	22894	LNCaP (+/-)

CD22, BCMA	22080	22895	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (1.5+)
PSMA, PSMA	22081	22896	LNCaP (3.5+)
CD22, CD22	22082	22897	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22083	22898	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (+/-)
CD22, CD22	22084	22899	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (-)
CD22, BCMA	22085	22900	Raji (+/-), Nalm6 (-), L363 (1.5+)

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ И БИПАРАТОПНЫЕ SAR НА КАРКАСАХ SIR, AABD-TCR и TCR

Была создана другая панель конструкций, включающая другой антигенсвязывающий домен, линкеры и константные цепи TCR, которую протестировали в анализе JNG (таблица 45). Конструкции, представленные SEQ ID NO: 22096 и 22098, показали наилучшую активность в этой группе. Обе эти конструкции кодировали FHVH, присоединенный к укороченной цепи TCRg (TCRg-6MD; SEQ ID NO: 1132) через линкер IgCL (SEQ ID NO: 1142), и второй FHVH, присоединенный к укороченной цепи TCRd (TCRd-6MD; SEQ ID NO: 1139) через линкер IgG1-CH1 (SEQ ID NO: 1143). Конструкция с SEQ ID NO: 22099 также показала хорошую активность. Эта конструкция содержит закодированный FHVH, присоединенный к укороченной цепи TCRa (TCRa-wt2-opt-6MD; SEQ ID NO: 1112) через линкер IgCL (SEQ ID NO: 1142), и второй FHVH, присоединенный к укороченной цепи TCRd (TCRb -wt2-opt-6MD; SEQ ID NO: 1126) через линкер IgG1-CH1 (SEQ ID NO: 1143).

Конструкция, в которой vNH, или FHVH, или центирин, или аффибоди, или другой неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий домен функционально связаны с фрагментом vL и vH, которые затем функционально связаны через Ig-линкеры (например, IgCL1 и IgG1-CH1) с константными цепями укороченного TCR, принадлежащими к TCR α , β , γ или δ (т.е. TCRg-6MD, TCRd-6MD, TCRa-wt2-opt-6MD и TCRb-wt2-opt-6MD), сохраняли свою активность против двух или более антигенов-мишеней.

Конструкции, в которых кодируемый линкер IgG1-CH1 заменен другими Ig-линкерами, перечисленными в таблице 13, также являются активными. Также активны конструкции, в которых кодируемые домены FHVH заменены на другие AABD (например, vNH, центирин, Rzip, E4, CD16 V158 и т.п.). Конструкции, в которых кодируемые множественные AABD соединены тандемно с помощью коротких необязательных связей, а затем присоединены в рамке считывания к укороченным константным цепям TCR (например, SEQ ID NO: 1126, 1132, 1139, 1112) с помощью Ig-линкеров, также тестировались в клетках JNG и показали хорошую сигнальную активность. Конструкции с длинными линкерными доменами (т.е. кодирующими >25

аминокислотных остатков) между AABD и укороченными константными цепями TCR демонстрировали более сильную передачу сигналов по сравнению с конструкциями с короткими линкерами. Конструкции, которые кодируют длинные линкеры длиной от 50 до 150 аминокислот, проявляли превосходную активность. Конструкции, в которых AABD присоединен к укороченной цепи TCR (например, TCRb-wt2-opt-6MD, TCRa-wt2-opt-6MD, TCRg-6MD, TCRd-6MD и т.п.) через Ig-линкер или длинный линкер вместе обозначаются как AABD-TCR.

Приведенные выше результаты демонстрируют, что присоединение AABD не влияет на способность фрагмента vL объединяться с комплементарным ему фрагментом vH с образованием Fv, который может распознавать антиген-мишень и индуцировать клеточную передачу сигналов, когда каждый фрагмент vL и vH присоединен к укороченную константную цепь TCR через Ig-линкер или длинный линкер. Приведенные выше результаты дополнительно демонстрируют, что AABD (например, vHH или SVH), который функционально связан с N-концом или вблизи N-конца фрагмента vL или vH, сохраняет свою способность связываться со своим антигеном-мишенью и индуцировать T-клеточную передачу сигнала, когда экспрессируется как часть SAR. В совокупности эти неожиданные результаты демонстрируют, что присоединение AABD к кодируемому N-концу фрагмента vL или vH SAR не препятствует сборке функционального Fv, способного связывать антиген-мишень и индуцировать T-клеточную передачу сигнала.

Таблица 45. Биспецифические и двухпаратопные SAR на каркасе SIR и AABD, TCR

АНТИГЕН	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
BCMA	22087	22902	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-G4S-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-IgHSP-BCMA-FHVVH-33-GS-[TCRα-wt2-opt-6MD]	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (2+)
CD19, BCMA	22088	22903	CD8SP-FMC63-scFv-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-FHVVH-93-GS-[TCRα-wt2-opt-6MD]	Raji (2+), Nalm6 (2.5+), L363 (3+)
CD22, BCMA	22089	22904	CD8SP-CD22-FHVVH-24-GS-[TCRβ-wt2-opt-6MD]-F-P2A-SP-BCMA-FHVVH-93-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (2+)
CD22, BCMA	22090	22905	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgG1-Шарнир-[TCRβ-wt2-opt-6MD]-F-P2A-SP-BCMA-FHVVH-93-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Nalm6 (-), L363 (3+)
CD22, BCMA	22091	22906	CD8SP-CD22-FHVVH-24-[hTCRβ-KACIAH]-F-P2A-SP-BCMA-FHVVH-93-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (+/-), L363 (1.5+)

BCMA	22092	22907	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-SP-BCMA-FHVVH-33-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Nalm6 (-), L363 (1.5+)
CEA, CD19	22093	22908	CD8SP-CEA300-aVH-V5-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-MYC-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (+), L363 (-), LoVo (+/-)
CD19, PSMA	22094	22909	CD8SP-FMC63-scFv-V5-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-IgHSP-PSMA28v2-ChVH-G4Sx2-PSMA71v2-ChVH-MYC-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Nalm6 (+), L363 (+/-), LNCaP (+/-)
CD19, BCMA	22095	22910	CD8SP-FMC63-scFv-[hTCR β -S57C]-F-P2A-SP-BCMA-FHVVH-93-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (2+), L363 (2+)
CD22, BCMA	22096	22911	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-BCMA-FHVVH-93-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (+), L363 (3.5+)
CD22, BCMA	22097	22912	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-Bcu-IgHSP-BCMA-FHVVH-93-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (1.5+)
BCMA	22098	22913	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-Bcu-IgHSP-BCMA-FHVVH-33-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	L363 (4+)
BCMA	22099	22914	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-Bcu-IgHSP-BCMA-FHVVH-33-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	L363 (2+)

ПОЛУЧЕНИЕ SAR-КОНСТРУКЦИЙ НА КАРКАСАХ SIR И Ab-TCR

Другая панель SAR-конструкции создана на каркасе SIR и ab-TCR (таблица 46). Примерный двухцепочечный биспецифичный SAR на каркасе SIR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCR β -S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vNH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC и представлен SEQ ID NO (DNA): 22104 и SEQ ID NO (PRT): 22919. Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR, который был описан в WO 2018102795 и полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Одна цепь SAR-конструкции кодирует гуманизированный фрагмент vL hu-mROO5-1, объединенный с константной цепью человеческого TCR β , несущего мутацию S57C (hTCR β -S57C), а другая цепь SAR кодирует гуманизированный фрагмент vH hu-mROO5-1, объединенный с константной цепью TCR α человека, несущего мутацию T48C (hTCR α -T48C). Фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH из SAR вместе образуют Fv, нацеленный на CD19. Фрагмент vNH, нацеленный на CD20 (CD20-vNH2-HCD25), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через Fv hu-mROO5-1 и нацеливается на CD20

через CD20-USC1-vHH-2HCD26. Эта конструкция показала сильную активность против клеточных линий RAJI (CD19+/CD20+), RAJI-CD19-KO (CD19+/CD20-), DAUDI (CD19+/CD20+) и RS;411 (CD19+/CD20-) при экспрессии в клетках JNG и тестировании с применением анализа JNG. Была создана большая панель дополнительных биспецифичных SAR-конструкций, в которых кодируемый один AABD присоединен к фрагментам vL hu-mROO5-1 или vH hu-mROO5-1 двухцепочечного SIR, и они представлены SEQ ID NO: 22104-22119 (таблица 46). Эти конструкции различаются по типу AABD (например, FHVH, vHH, центирин и т.п.), типу константной цепи TCR (например, hTCRb-S57C, hTCRb-KACIAH, hTCRa-CSDVP, hTCRa-T48C-opt, hTCRg-d5, hTCRd-d2 и т.п.), и природе антигена-мишени, на который нацелены AABD и Fv (таблица 46). Примерная конструкция с SEQ ID NO: 22109 кодирует центирин, нацеленный на BCMA, в качестве AABD, тогда как типичная конструкция с SEQ ID NO: 22118 в качестве AABD кодирует домен CD20 vHH. Эти конструкции продемонстрировали устойчивую активность в отношении группы клеточных линий, экспрессирующих один или оба антигена-мишени, при этом проявляя отсутствие неспецифической активности в отношении клеточных линий, в которых отсутствует экспрессия обоих антигенов-мишеней (таблица 46).

Приведенные выше результаты демонстрируют, что присоединение AABD не влияет на способность фрагмента vL объединяться с комплементарным ему фрагментом vH с образованием Fv, который может распознавать антиген-мишень и индуцировать клеточную передачу сигналов, когда каждый фрагмент vL и vH присоединен к константной цепи TCR. Приведенные выше результаты дополнительно демонстрируют, что AABD (например, vHH или SVH), который функционально связан с N-концом или вблизи N-конца фрагмента vL или vH, сохраняет свою способность связываться со своим антигеном-мишенью и индуцировать T-клеточную передачу сигнала, когда экспрессируется как часть SAR с каркасом SIR. В совокупности эти неожиданные результаты демонстрируют, что присоединение AABD к кодируемому N-концу фрагмента vL или vH SAR не препятствует сборке функционального Fv, способного связывать антиген-мишень и индуцировать T-клеточную передачу сигнала.

Затем была создана панель триспецифичных SAR-конструкций на каркасе SIR hu-mROO5-1, представленная SEQ ID NO: 22123-22139. Эти конструкции различаются по типу кодируемого AABD (например, FHVH, vHH, центирин и т.п.), типу константной цепи TCR (например, hTCRb-S57C, hTCRb-KACIAH, hTCRa-CSDVP, hTCRa-T48C-opt, hTCRg-d5, hTCRd-d2 и т.п.), а также природе целевого антигена, на который нацелены AABD и Fv (таблица 46).

Примерный двухцепочечный трехспецифичный SAR, содержащий две цепи, представляет собой CD8SP-CD20-VHH-2HCD26-USC1-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC и представлен DNA SEQ ID NO: 22136 и PRT SEQ ID NO: 22951. Другой примерный трехспецифичный SAR с двойной цепью с этой конструкцией представляет собой CD8SP-BCMA-FHVN-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22123). Эта SAR-конструкция имеет каркас SIR. Кодированные hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH фрагменты SIR димеризуются с образованием Fv, нацеленного на CD19. Фрагмент FHVN, нацеленный на BCMA, объединяют с N-концом фрагмента vL hu-mROO5-1 через линкер глицин-серин (G4S). Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH2-HCD25), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый (GS) линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через hu-mROO5-1 Fv, нацеливается на BCMA через BCMA FHVN-93 и нацеливается на CD20 через CD20-vHH2-HCD25. Эти конструкции продемонстрировали устойчивую активность в отношении группы клеточных линий, экспрессирующих один или оба антигена-мишени, при этом проявляя отсутствие неспецифической активности в отношении клеточных линий, в которых отсутствует экспрессия обоих антигенов-мишеней (таблица 46).

Панель двухцепочечных биспецифичных и триспецифичных конструкций также была сконструирована на каркасе двухцепочечного Ab-TCR и представлена SEQ ID NO: 22120-22122 и 22140-22141, соответственно. Репрезентативным SAR с каркасом Ab-TCR является CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22120). Одна цепь этой SAR-конструкции кодирует гуманизированный фрагмент vL из hu-mROO5-1, объединенный с константной цепью укороченного TCRb (TCRb-wt2-opt-6MD) через линкер IgCL, а другая цепь SAR кодирует гуманизированный фрагмент vH из hu-mROO5-1, объединенный с константной цепью укороченной цепи TCRA человека (TCRa-wt2-opt-6MD) через линкер IgG1-CH1. Кодированные фрагменты hu-mROO5-1 vL и hu-mROO5-1 vH из SAR вместе образуют Fv, нацеленный на CD19. Фрагмент vHH, нацеленный на CD20 (CD20-vHH2-HCD25), объединяют с N-концом фрагмента vH hu-mROO5-1 через глицин-сериновый линкер. Таким образом, SAR нацеливается на CD19 через Fv hu-mROO5-1 и нацеливается на CD20 через CD20-USC1-vHH-2HCD26. Эти конструкции продемонстрировали устойчивую активность в отношении группы клеточных линий, экспрессирующих один, два или три их антигена-мишени, при этом демонстрируя отсутствие неспецифической активности в отношении

клеточных линий, в которых отсутствует экспрессия любого из их антигенов-мишеней (таблица 46).

Экспрессию различных антигенов на панели клеточных линий можно определить по таблицам С-1 и С-2.

Другая панель биспецифичных и триспецифичных SAR-конструкций была создана на каркасе двухцепочечных SIR или двухцепочечных Ab-TCR, содержащих фрагменты vL и vH, полученные из гуманизированного антитела huRFB4, нацеленного на CD22, гуманизированного антитела hu-161-2, нацеленного на MPL, гуманизированного и оптимизированного антитела BCMA-hu72, нацеленного на BCMA, и антитела CD20-2F2, нацеленного на CD20. Эти конструкции представлены SEQ ID NO: 22144-22147, 22148-22150, 22151-22155, 22156-22159. Эти конструкции продемонстрировали устойчивую активность в отношении группы клеточных линий, экспрессирующих один, два или все три их антигена-мишени, при этом демонстрируя отсутствие неспецифической активности в отношении клеточных линий, в которых отсутствует экспрессия любого из их антигенов-мишеней (таблица 46).

Другая панель биспецифичных и триспецифичных SAR-конструкций была создана на каркасе CD19-направленного hu-mROO5-1, на основе двухцепочечного SIR, нацеленного на дополнительные антигены, экспрессируемые при гемобластозах (например, CD123) и в солидных опухолях (например, IL13Ra2, Muc16 и т.п.). Эти конструкции, представленные SEQ ID NO: 22164-22172, продемонстрировали сильную активность в отношении группы клеточных линий, экспрессирующих их антиген(ы)-мишень(и), при этом демонстрируя отсутствие неспецифической активности в отношении клеточных линий, в которых отсутствует экспрессия любого из их антигенов-мишеней (таблица 46).

Другая биспецифическая SAR-конструкция вызывала направленное воздействие на CD19 и PD1 (SEQ ID NO: 22162) и проявляла устойчивую активность в отношении клеточных линий Raji, Nalm6 и RS;411 (таблица 46).

Другая биспецифическая SAR-конструкция вызывала направленное воздействие на CD19 и сывороточный альбумин человека (SEQ ID NO: 22163). В этой конструкции vH, нацеленный на человеческий сывороточный альбумин (HAS), присоединен к vL-фрагменту hu-mROO5-1 через расщепляемый протеазой линкер MMP14X3. Эта конструкция показала дозозависимое снижение активности при добавлении сывороточного альбумина человека (таблица 46).

Была создана другая панель SAR-конструкций, содержащая Fc-связывающий домен высокоаффинного варианта CD16A, Fc-рецептора человека (SEQ ID NO: 22170-

22173). Конструкции экспрессировали в клетках JNG и тестировали на индукцию GFP при совместном культивировании с клеточными линиями, экспрессирующими антиген-мишень. Кроме того, эксперимент повторяли в присутствии и в отсутствие герцептина (антитела к Her2) и/или ритуксимаба (антитела к CD20). Конструкция с SEQ ID NO: 22170 показала надежную индукцию GFP при совместном культивировании с клетками RAJI и отсутствие неспецифической индукции GFP при совместном культивировании с клетками RAJI-CD19-KO. Кроме того, клетки JNG, экспрессирующие эту SAR-конструкцию, демонстрировали надежную индукцию GFP при совместном культивировании с клетками SKOV-3 (Her2+/CD19-) в присутствии герцептина (1 мкг/мл) (таблица 46). По существу аналогичные результаты были получены с клетками JNG, экспрессирующими SAR-конструкции с SEQ ID NO: 22173-22176. Клетки JNG, экспрессирующие SAR-конструкцию, экспрессирующую CD19 и CD16 V158, с SEQ ID NO: 22172, продемонстрировали устойчивую индукцию GFP с помощью клеток Raji, экспрессирующих CD19, но отсутствие индукции GFP с помощью клеток RAJI-CD19-KO (CD19-ve). Однако он показал устойчивую индукцию GFP при совместном культивировании с клетками RAJI-CD19-KO в присутствии ритуксимаба, который нацелен на антиген CD20 (таблица 46). В совокупности приведенные выше результаты демонстрируют способность SAR-конструкций обладать биспецифичными, триспецифичными и универсальными свойствами. Конструкции UNICON (например, SEQ ID NO: 22170-22176) могут нацеливаться на некоторые антигены конститутивно, а на другие антигены условно только в присутствии добавленных антител, тем самым обеспечивая очень гибкую и адаптируемую платформу для адоптивной клеточной терапии, которая сочетает в себе удобство и снижение стоимости с гибкостью и повышенную безопасность и эффективность.

Примерная триспецифическая SAR-конструкция, нацеленная на CD19 и CD20 и коэкспрессирующая лиганд-связывающий домен NKG2D, представлена SEQ ID NO: 22177 и показала устойчивую активность против клеток Raji и Nalm6, экспрессирующих CD19, а также против клеток SKOV-3, экспрессирующих NKG2D-лиганд (таблица 6).

Примеры биспецифичных и триспецифичных конструкций, нацеленных на PSMA вместе с одним или несколькими гемопозитическими антигенами (например, CD19, CD20 и т.п.), представлены SEQ ID NO: 22178-22190 и демонстрируют устойчивую активность индукции GFP против клеток Raji (CD19+/CD20+/PSMA-) и LNCaP (CD19-/CD20-/PSMA+).

Примеры биспецифичных и триспецифичных SAR-конструкций, содержащих Cltx (хлоротоксин), присоединенный к каркасу SIR, нацеленного на CD19, представлены SEQ

ID NO: 22191-22193. Cltx нацеливается на небольшой хлоридный канал проводимости, экспрессируемый на некоторых раковых клетках. Эти конструкции показали надежную индукцию GFP при совместном культивировании с Raji, Nalm6, RS;411 и другими клеточными линиями, но не обладали неспецифической активностью в отношении клеток Raji-CD19-KO или L363.

Примерные биспецифичные SAR-конструкции, нацеленные на CD19 и Her2, представлены SEQ ID NO: 22195-22197 и демонстрируют устойчивую активность индукции GFP против клеточных линий Raji (CD19+) и SKOV-3 (Her2+) (таблица 46). Конструкции с SEQ ID NO: 22195 и 22197 кодируют дарпин, нацеленный на Her2, в качестве AABD, тогда как конструкция с SEQ ID NO: 22196 кодирует домен vHH, нацеленный на Her2.

Примерные биспецифичные SAR-конструкции, нацеленные на CD19 и Her3, представлены SEQ ID NO: 22198 и демонстрируют устойчивую активность индукции GFP в отношении клеточных линий Raji (CD19+), MCF-7 (Her3+) и SKOV-3 (Her3+) (таблица 46).

Примеры биспецифичных и триспецифичных конструкций на основе $\gamma\delta$ TCR представлены SEQ ID NO: 22201 и 22202. В конструкции CD8SP-BCMA-FHVN-93-G4S-TCR-Vg9-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-TCR-Vd2-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22201) кодируемы BCMA-FHVN объединен в рамке считывания с N-концом варибельного домена Vg9 через линкер G4S, а кодируемый фрагмент CD20-vHH2-HCD25 присоединен к N-концу варибельного домена Vd2 через линкер G4S. Эта конструкция продемонстрировала надежную индукцию GFP при экспонировании клеткам Raji, Raji-CD19-KO (CD19-/BCAM+) и L363 (BCMA+), тем самым продемонстрировав способность генерировать триспецифичный SAR на каркасе TCR. Аналогичные результаты были получены с биспецифичным SAR, представленным SEQ ID NO: 22202, который нацелен на CD20 в качестве одного из его антигенов.

Несколько SAR-конструкций с гибридными цепями также проявили активность и представлены SEQ ID NO: 22203-22207. Конструкция CD8SP-BCMA-FHVN-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-Her2-huMab4D5-D98W-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC с SEQ ID NO: 22203 имеет каркас SIR и кодирует vL-фрагмент из hu-mROO5-1, нацеленного на CD19, и vH-фрагмент из Her2-специфичного Her2-huMab4D5-D98W. Клетки JNG, экспрессирующие эту конструкцию, были способны реагировать на клетки Raji и L363 посредством индукции GFP через свои домены BCMA-FHVN-93 и CD20-vHH2-HCD25, хотя они не реагировали на клетки SKOV-3, экспрессирующие Her2. Эти результаты демонстрируют, что функциональный

Fv-фрагмент, нацеленный на CD19 и/или Her2, не образуется, поскольку в этой конструкции отсутствуют комплементарные цепи hu-mROO5-1 vH и Her2-huMab4D5-D98W-vL. Тем не менее, экспрессированные фрагменты hu-mROO5-vL и Her2-huMab4D5-D98W vH служат остовом для присоединения доменов BCMA-FHvH-93 и CD20-vHH2-HCD25. Таким образом, функциональный биспецифичный и/или триспецифичный SAR на каркасе двухцепочечного SIR может быть создан с помощью фрагментов vL и vH, полученных из разных антител.

Аналогично, SAR-конструкция MC7G5-TCRb-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22205) содержал фрагмент Vb из TCR MC.7.G5 и фрагмент vH из антитела hu-mROO5-1, но была способна демонстрировать устойчивую активность индукции GFP (таблица 46) при экспрессии в клетках JNG при воздействии клеток Raji, которые были связаны доменом CD20-vHH2-HCD25. Таким образом, функциональный биспецифичный и/или триспецифичный SAR на каркасе двухцепочечного SIR может быть получен с одним переменным фрагментом (например, Va, Vb, Vg или Vd), полученным из TCR, и вторым переменным фрагментом (например, vL или vH), полученным из антитела.

Аналогично, SAR-конструкция CD8SP-BCMA-FHvH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH-USC1-2HCD26-G4S-AFP-Va-14-3-AI-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22206) кодирует фрагмент hu-mROO5-vL из антитела, нацеленного на CD19, и переменный фрагмент (Va) из TCR, нацеленный на AFP. Эта конструкция показала сильную активность индукции GFP (таблица 46) при воздействии на клетки Raji, которые были связаны доменом CD20-vHH2-HCD25. Эти результаты дополнительно демонстрируют, что функциональный биспецифичный и/или триспецифичный SAR на каркасе двухцепочечного SIR может быть сконструирован с одним переменным фрагментом, полученным из TCR, и вторым переменным фрагментом, полученным из антитела.

Конструкция CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCR-delta-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22207) кодирует hu-mROO5-1, присоединенный к укороченному фрагменту TCRg-6MD через линкер IgCL, и фрагмент hu-mROO5-1-vH, присоединенный к полноразмерной константной цепи hTCR-дельта без промежуточного линкера. Эта SAR-конструкция показала надежную индукцию GFP в ответ на клетки Raji (таблица 46), тем самым продемонстрировав, что домен Ig TCR может заменять домен Ig (т.е. IgCL, IgG1-CH1 и т.п.), полученный из антитела, для образования функционального SAR. Эта SAR-конструкция представляет собой гибрид между SIR и Ab-TCR.

Таблица 46. Анализ NFAT GFP на Jurkat с использованием биспецифических и мультиспецифических конструкций SAR				
Мишень	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	Анализ Jurkat-NFAT-GFP (JNG)
CD19	22101	22916	CD8SP-FMC63-vL-hTCRb-S57C-opt-F-P2A-SP-FMC63-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2. 5+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (3+)
CD19	22102	22917	CD8SP-FMC63-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-FMC63-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Raji-CD19-KO (-)
CD19	22103	22918	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (-)
CD19, CD22	22104	22919	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (5+), Daudi (6+), RS411 (5+)
CD19, CD20	22105	22920	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2.5+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (5+)
CD19, CD20	22106	22921	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (6+), L363 (-), RS411 (+)
CD19, CD20	22107	22922	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (5+), L363 (-), RS411 (+)
BCMA, CD19	22108	22923	CD8SP-BCMA-FHVH-74-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (7+), L363 (3.5+), RS411 (5+), HL60 (-), MOLM-13 (-), THP-1 (-)
BCMA, CD19	22109	22924	CD8SP-BCMA-Centyrin-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (+/-), Nalm6 (2+), L363 (+/-), RS411 (4+)
CD22, CD19	22110	22925	CD8SP-CD22-FHVH-24-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (-), L363 (-), U266 (-), RS411 (4+)

BCMA, CD19	22111	22926	CD8SP-BCMA-FHVVH-33-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (2+), L363 (3+), U266 (-), RS411 (4+), HL60 (-), MOLM-13 (-), THP-1 (-)
CD19, BCMA	22112	22927	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-BCMA-917-vHH-E59D-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (6.5+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (6+), L363 (4.5+), RS411 (4.5+)
CD19, CD20	22113	22928	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (4.5+), Daudi (4.5+), RS411 (4.5+)
CD19, CD20	22114	22929	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (6+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (6+), Daudi (6+), RS411 (5+)
CD19, BCMA	22115	22930	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-CD8SP-BCMA-FHVVH-74-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (2.5+), L363 (2.5+), RS411 (2+)
CD19, BCMA	22116	22931	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-CD8SP-BCMA-FHVVH-74-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (3+), L363 (3.5+), RS411 (2+)
CD19, CD22	22117	22932	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-CD8SP-CD22-FHVVH-24-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2.5+), Nalm6 (1.5+), L363 (-)
CD20-CD19	22118	22933	CD8SP-CD20-vHH-C07-G4S-CD19-huCD19USC3-vL-[hTCR β -S57C]-F-P2A-SP-CD19USC3-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (3+), Daudi (3+), RS411 (3+)
CD19, CD20	22119	22934	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (5.5+), L363 (-), RS411 (3+)
CD19, CD20	22120	22935	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (3.5+), L363 (-), RS411 (2.5+)

CD19, CD20	22121	22936	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (7+), L363 (-), RS411 (5.5+)
CD22- BCMA	22122	22937	CD8SP-CD22-FHVVH-24-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-Bcu-IgHSP-BCMA-FHVVH-93-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Nalm6 (1.5+), L363 (2.5+)
CD19, BCMA, CD20	22123	22938	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4.5+), Nalm6 (5+), L363 (3+), RS411 (4+), HL60 (-), MOLM-13 (-), THP-1 (-)
CD19, CD20, CD22	22124	22939	CD8SP-CD20-VHH-USC1-G4S-CD22-USC1-160-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (2.5+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (2+), RS411 (2+)
CD20, CD20, CD19	22125	22940	CD8SP-CD20-VHH-2HCD26-USC1-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (2.5+), L363 (-), RS411 (+/-)
CD19, CD19, CD20	22126	22941	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (6+), Nalm6 (5+), L363 (-), RS411 (+/-)
BCMA, CD20, CD19	22127	22942	CD8SP-BCMA-Centyrin-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (+), L363 (+), RS411 (+)
BCMA, CD38, CD19	22128	22943	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-G4Sx2-IE-G4Sx2-CD38-309021-FHVVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2+), L363 (2+), L363-CD38-KO (2+), RS411 (2+)
CD38, CD19, CD20	22129	22944	CD8SP-CD38-USC1-FHVVH-32184-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (+), L363 (+), RS411 (+)
BCMA, CD19, CD20	22130	22945	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (5.5+), L363 (5+), RS411 (4+)

BCMA, CD19, CD20	22131	22946	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (6+), L363 (5+), RS411 (3.5+)
BCMA, CD19, CD20	22132	22947	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4.5+), Raji-CD19-KO (6+), Nalm6 (5+), L363 (4+), RS411 (4+)
CD19, CD19, CD20	22133	22948	CD8SP-CD19-FHVVH-354-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2.5+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (5.5+)
CD38, CD19, CD20	22134	22949	CD8SP-CD38-USC1-FHVVH-32184-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (+/-), Raji-CD19-KO (+/-), Raji-CD22-KO (+/-), Nalm6 (-), L363 (-), U266 (-), RS411 (-)
BCMA, CD19, CD20	22135	22950	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Raji-CD19-KO (2.5+), Nalm6 (2.5+), L363 (2+), U266 (3+), RS411 (2+)
CD20, CD19, CD20	22136	22951	CD8SP-CD20-VHH-2HCD26-USC1-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2.5+), Nalm6 (+), L363 (-), U266 (-), RS411 (+)
CD38, CD19, CD20	22137	22952	CD8SP-CD38-331-vHH-D64E-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (-), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (-), L363 (-), U266 (-), RS411 (-)
CD38, CD19, CD20	22138	22953	CD8SP-CD38-331-vHH-S53E-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (-), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (-), L363 (-), U266 (-), RS411 (-)
BCMA, CD20, CD19	22139	22954	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (1.5+), L363 (1.5+), RS411 (2+)
BCMA, CD20, CD19	22140	22955	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (5+), L363 (2+), RS411 (4+)

BCMA, CD19, CD20	22141	22956	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (3.5+), Nalm6 (5.5+), L363 (2.5+), RS411 (4+)
BCMA, CD38, CD20, CD19	22142	22957	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-G4Sx2-IE-G4Sx2-CD38-309021-FHVVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (+), L363 (+/-), RS411 (+/-)
BCMA, CD38, CD19, CD20	22143	22958	CD8SP-BCMA-FHVVH-74-G4Sx2-IE-G4Sx2-CD38-309021-FHVVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (1.5+), L363 (2+), L363-CD38-KO (1.5+), RS411 (2+)
BCMA, CD22	22144	22959	CD8SP-BCMA-Centyrin-G4S-huRFB4-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-huRFB4-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Raji-CD22-KO (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (+), U266 (3+), RS411 (-)
BCMA, CD20, CD22	22145	22960	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-huRFB4-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-huRFB4-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (+/-), Raji-CD19-KO (1.5+), Raji-CD22-KO (2.5+), Nalm6 (+), L363 (1.5+), U266 (2+), RS411 (+)
BCMA, CD20, CD22	22146	22961	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-huRFB4-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-huRFB4-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (1.5+), Raji-CD22-KO (3+), Nalm6 (+/-), L363 (+), U266 (2+), RS411 (-)
BCMA, CD20, CD22	22147	22962	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-huRFB4-vL-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-huRFB4-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (+), Raji-CD22-KO (1.5+), Nalm6 (-), L363 (+), U266 (1.5+), RS411 (-)
BCMA, CD20, MPL	22148	22963	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-161-2-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-hu-161-2-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3+), Nalm6 (-), L363 (1.5+), U266 (2.5+), RS411 (-), HEL 92.1.7 (+)
BCMA, CD20, MPL	22149	22964	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-161-2-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-hu-161-2-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3+), Nalm6 (-), L363 (+), U266 (3+), RS411 (-), HEL 92.1.7 (+/-)
BCMA, CD20, MPL	22150	22965	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-161-2-vL-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-hu-161-2-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (+/-), U266 (+), RS411 (-), HEL 92.1.7 (-)

BCMA, BCMA	22151	22966	CD8SP-BCMA-Centyrin-G4S-BCMA-hu72-vL-S29G-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH-G32S-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	L363 (2+), U266 (4+), RS411 (-)
BCMA, BCMA	22152	22967	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G4S-BCMA-hu72-vL-S29G-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH-G32S-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	L363 (2+), U266 (4.5+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22153	22968	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-BCMA-hu72-vL-S29G-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-BCMA-hu72-vH-G32S-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (2.5+), Nalm6 (1.5+), L363 (2+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22154	22969	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-BCMA-hu72-vL-S29G-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-BCMA-hu72-vH-G32S-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (4+), Nalm6 (+), L363 (2+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22155	22970	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-BCMA-hu72-vL-S29G-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-BCMA-hu72-vH-G32S-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (2+), Nalm6 (1.5+), L363 (1.5+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22156	22971	CD8SP-BCMA-Centyrin-G4S-CD20-2F2-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD20-2F2-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Nalm6 (-), L363 (+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22157	22972	CD8SP-BCMA-FHVH-33-G4S-CD20-2F2-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD20-2F2-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (+/-), L363 (1.5+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22158	22973	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-CD20-2F2-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD20-2F2-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3+), Nalm6 (+), L363 (1.5+), RS411 (-)
BCMA, CD20	22159	22974	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-CD20-2F2-vL-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD20-2F2-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (3+), Nalm6 (+/-), L363 (+/-), RS411 (-)
BCMA, CD20	22160	22975	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-HuLuc64-vL-huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (+), L363 (+), U266 (3+), RS411 (-)

BCMA, CD20, CD19	22161	22976	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+/-), Raji-CD19-KO (+/-), Nalm6 (+/-), L363 (-), RS411 (-)
CD19, PD1	22162	22977	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-PD1-vHH-USC-707-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5.5+), Nalm6 (5+), RS411 (2.5+)
CD19, CD20, Альбу мин	22163	22978	CD8SP-Alb8-vHH-MMP14X3-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (4.5+), Raji + 5% Человеческий сывороточный альбумин (2+), Raji + 10% Человеческий сывороточный альбумин (3+), Raji + 25% Человеческий сывороточный альбумин (+),
CD19, CD123	22164	22979	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD123-USC-3-vHH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (6+), L428 (3+)
BCMA, CD20, CD19	22165	22980	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), L363 (+)
MUC1 6, CD19, CD20	22166	22981	CD8SP-MUC16-VHH-USC1-R3MU5-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	SKOV-3 (2+), Raji (2+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (3+), RS411 (2.5+)
MUC1 6, CD19, CD20	22167	22982	CD8SP-MUC16-VHH-USC2-R3MU5-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	SKOV-3 (1.5+), Raji (+), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (1.5+), RS411 (1.5+)
IL13Ra 2, CD19, CD20	22168	22983	CD8SP-IL13Ra2-vHH-USC2-C13-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	U-87 MG (3.5+), Raji (3+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (6+), RS411 (5.5+)

IL13R A, CD19, CD20	22169	22984	CD8SP-IL13Ra2-vHH-USC1-C1-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (4.5+), L363 (-), RS411 (2+), U-87 MG (3+)
CD19, Fc	22170	22985	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD16A-V158-FL-v2-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (6+), Raji-CD19-KO (-), SKOV-3 (-), SKOV-3 + 1µg/mL Herceptin (5.5+)
CD19, CD20, Fc	22171	22986	CD8SP-CD16A-V158-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (5+), RS411 (4+)
CD19, Fc	22172	22987	CD8SP-CD16A-V158-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4.5+), Raji-CD19-KO (-), Raji-CD19-KO+ Rituximab (2.5+)
CD22, CD20, Fc	22173	22988	CD8SP-CD16A-V158-G4S-huRFB4-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-huRFB4-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2+), Raji-CD22-KO (3+), Nalm6 (+), L363 (-), SKOV-3 (-), Raji-CD19-KO + Rituximab (2+), SKOV-3 + Herceptin (4+)
BCMA, CD19, Fc	22174	22989	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD16A-V158-FL-v2-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (3+), L363 (2.5+), U266 (3+), RS411 (2+), SKOV-3 (-), Raji-CD19-KO + Rituximab (2+), Raji-CD19-KO Herceptin (1.5+), SKOV-3 + Herceptin (4+)
CD20, CD19, Fc	22175	22990	CD8SP-CD20-VHH-2HCD26-USC1-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD16A-V158-FL-v2-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (4.5+), Nalm6 (4+), L363 (-), RS411 (2.5+), SKOV-3 (-), Raji-CD19-KO + Rituximab (3.5+), Raji-CD19-KO Herceptin (4+), SKOV-3 + Herceptin (4+)
CD20, Fc	22176	22991	CD8SP-CD16A-V158-G4S-CD20-2F2-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD20-2F2-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Nalm6 (+), SKOV-3 (-), SKOV-3 + Herceptin (4+)
CD19, CD20, NKG2 D-L	22177	22992	CD8SP-NKG2D-G4Sx3-NKG2D-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-	Raji (2.5+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (3+), L363 (+), SKOV-3 (2+)

			F2A-PAC	
PSMA, CD20, CD19	22178	22993	CD8SP-PSMA71-chVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4.5+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (5+), L363 (+/-), RS411 (+), LNCaP (5+)
CD19, PSMA	22179	22994	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (-), L363 (+/-), RS411 (+), LNCaP (6+)
CD19, PSMA	22180	22995	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (+/-), L363 (+/-), RS411 (+), LNCaP (7+)
CD19, PSMA	22181	22996	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (-), LNCaP (4+)
PSMA, CD19	22182	22997	CD8SP-PSMA-USC76-chVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), LNCaP (3.5+)
PSMA, CD19	22183	22998	CD8SP-PSMA-USC104-chVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), LNCaP (3.5+)
PSMA, CD19	22184	22999	CD8SP-PSMA-USC101-chVH-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), LNCaP (3.5+)
CD19, PSMA	22185	23000	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-PSMA-USC-30-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), LNCaP (5+), Huh 7 (+), KMH2 (+/-)
CD19, PSMA	22186	23001	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-PSMA-USC-29-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2+), LNCaP (5+), Huh 7 (2+), KMH2 (2+)
CD19, PSMA	22187	23002	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (4.5+), LNCaP (4+)
CD19, PSMA	22188	23003	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d5-F-P2A-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (2.5+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (2+), LNCaP (3+)

CD19, PSMA	22189	23004	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (+), LNCaP (+)
CD19, PSMA	22190	23005	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-IgHSP-PSMA28v2-chVH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (+), LNCaP (5+)
CD19, Cl channel	22191	23006	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CLTX23-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (4+), L363 (-), RS411 (2+)
CD19, CD20, Cl- канал	22192	23007	CD8SP-CLTX-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (2.5+), Nalm6 (+), L363 (-), RS411 (3+)
CD19, Cl- канал	22193	23008	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CLTX23-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (+), L363 (-), RS411 (-)
CD22, HER2	22194	23009	CD8SP-CD22-FHVH-24-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-Her2-affi-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	SKOV-3 (-), MCF-7 (-), Raji (4+)
CD19, HER2	22195	23010	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Her2-Dar1-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (7+), L363 (-), SKOV-3 (4+), MCF-7 (5.5+), MDA-MB-231 (5.5+), PC-3 (6+)
CD19, HER2	22196	23011	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Her2-47D5-vHH-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Raji-CD19-KO (-), SKOV-3 (7+)
CD19, HER2	22197	23012	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Her2-Dar1-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (-), SKOV-3 (5+)
HER3, BCMA	22198	23013	Her3-affi-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-Bcu-IgHSP-BCMA-FHVH-93-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	SKOV-3 (3+), MCF-7 (5.5+), L363 (2.5+)
CD19, HER3	22199	23014	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Her3-AFFI-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+), Raji-CD19-KO (-), Nalm6 (7+), L363 (-), SKOV-3 (-)
MIR1, CD20	22200	23015	MC7G5-TCRb-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-MC7G6-TCRa-Va-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Nalm6 (-), L363 (-), RS411 (-)

BCMA, CD20, HMB- PP	22201	23016	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-TCR-Vg9-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-TCR-Vd2-F-F2A-PAC	Raji (2.5+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (+/-), L363 (1.5+), RS411 (-)
CD20, HMB- PP	22202	23017	CD8SP-TCR-Vg9-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-TCR-Vd2-F-F2A-PAC	Raji (3+)
BCMA, CD20	22203	23018	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-Her2-huMab4D5-D98W-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (-), Raji (4.5+), L363 (4+)
CD20	22204	23019	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-Her2-huMab4D5-D98W-vH-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-PAC	SKOV-3 (-), Raji (3+)
CD20	22205	23020	MC7G5-TCRb-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+)
BCMA, CD20	22206	23021	CD8SP-BCMA-FHVVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-AFP-Va-14-3-AI-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC	Raji (6+)
CD19	22207	23022	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCR-delta-F-F2A-PAC	Raji (5+)

SAR-конструкции, содержащие эпитопы

Была создана панель моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR-конструкций, содержащих одну или несколько эпитопных меток, присоединенных к N-концевому домену кодируемых антигенсвязывающих доменов (например, vL, vH, AABD и т.п.) посредством короткого гибкого линкера Gly-Ser или линкеров, расщепляемых протеазой (таблица 19). SEQ ID этих примерных конструкций представлены в Таблице 47. Конструкции были экспрессированы в клетках JNG и проявляли значительную активность при воздействии на клетки, экспрессирующие антиген-мишень, тем самым демонстрируя, что присоединение метки эпитопа не мешает антигенсвязывающей способности антигенсвязывающих доменов. Что еще более важно, многие конструкции продемонстрировали связывание с ритуксимабом при измерении с помощью проточной цитометрии и снижение выживаемости при культивировании с ритуксимабом в отсутствие и в присутствии комплемента. Аналогичным образом, конструкция с SEQ ID NO: 22247 и 22248 показала связывание с герцептином, измеренное

с помощью проточной цитометрии. Клетки JNG, экспрессирующие конструкции с SEQ ID NO: 22247 и 22248, проявляли цитотоксичность при воздействии герцептина (трастузумаб), T-DM1 (Кадсила. трастузумаб эмтанзин) и Энхерту. Иммуные клетки, экспрессирующие SAR, меченные эпитопом Ritx2 (SEQ ID NO: 22209), очищали с применением проточной цитометрии и/или MACS с применением ритуксимаба. Иммуные клетки, экспрессирующие SAR, меченные мимео-меткой герцептина (SEQ ID NO: 22247 и 22248), очищали с помощью проточной цитометрии и/или MACS с применением Герцептин. Кроме того, иммуные клетки (например, Т-клетки), экспрессирующие SAR (SEQ ID NO: 22247 и 22248), истощали при введении герцептина, T-DM1 или энхерту субъектам, преобразованным с помощью этих SAR-экспрессирующих клеток. Доза и частота введения этих антител известны в данной области.

Таблица 47. Моноспецифические, биспецифические и бипаратопные SAR с эпитопными мечками и протеазоращаемыми линкерами				
АНТИГЕН	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
CD19, CD20	22209	23024	CD8SP-RitX2-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (2+)
CD19, CD20	22210	23025	CD8SP-Герцептин-Mimotag-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (+)
CD19	22211	23026	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Герцептин-Mimotag-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2+), Raji-CD19-KO (-)
CD19, CD20	22212	23027	CD8SP-R8-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (6+), Raji-CD19-KO (6+)
CD19, CD20	22213	23028	CD8SP-RitX2-MMP14-1-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-	Raji (1.5+)

			[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	
CD19, CD20	22214	23029	CD8SP-RitX2-MMP9x2-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (+)
CD19, CD20	22215	23030	CD8SP-RitX2-Катепсин-S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3+), Raji-CD19-KO (3+)
CD19, CD20	22216	23031	CD8SP-Герцептин-Mimotag-MMP9x2-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (4.5+)
BCMA, CD19, CD20	22217	23032	CD8SP-BCMA-FHvH-93-Катепсин-S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (3+), Nalm6 (4+), L363 (3+), U266 (4+), RS411 (1.5+)
CD19, CD20	22218	23033	CD8SP-R5pLtag-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3+)
CD19	22219	23034	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-R8-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+/-)
BCMA, CD19, CD20	22220	23035	CD8SP-BCMA-FHvH-93-MMP14-1-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (-), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (+/-), L363 (+/-), U266 (+), RS411 (-)
BCMA, CD20, CD19	22221	23036	CD8SP-BCMA-FHvH-93-MMP9x2-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-	Raji (-), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (+), L363 (+), U266 (2+), RS411 (+)

			opt]-F-F2A-PAC	
CD19, CD20	22222	23037	CD8SP-Герцептин-Мимотэг-Катепсин-S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+)
CD19	22223	23038	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Герцептин-Мимотэг-MMP1-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (3+)
CD19, BCMA	22224	23039	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-BCMA917-vHH-E59D-MMP14-2-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+), Raji-CD19-KO (2+), Nalm6 (2.5+), L363 (2+), U266 (4+), RS411 (1.5+)
CD19, BCMA	22225	23040	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-BCMA917-vHH-E59D-MMP1-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (1.5+), Raji-CD19-KO (4+), Nalm6 (3+), L363 (3+), U266 (5+), RS411 (2+)
BCMA, CD20, CD19	22226	23041	CD8SP-BCMA-FHvH-93-MMP9x2-hu-mROO5-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+/-), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (+), L363 (+), U266 (2.5+), RS411 (+/-)
CD19	22227	23042	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Герцептин-Мимотэг-MMP14-2-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+)
CD19	22228	23043	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-R5pL-tag-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2+)
BCMA, CD19, CD20	22229	23044	CD8SP-BCMA-FHvH-93-MMP14-1-hu-mROO5-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-	Raji (3+), Raji-CD19-KO (5+), Nalm6 (3.5+), L363 (3.5+), U266 (6+), RS411 (2+)

			opt]-F-F2A-PAC	
CD19	22230	23045	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-R5pLx2-Qbend-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+), Raji-CD19-KO (-)
CD19, CD20	22231	23046	CD8SP-Герцептин-Mimotag-MMP14-1-hu-mROO5-vL-[hTCRb-КАСИАH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (3.5+), Raji-CD19-KO (4.5+)
CD19	22233	23048	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-RitX2-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (2.5+)
CD19	22234	23049	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-ГерцепMimotopx3-citux-Mimotope1-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (+/-)
CD19	22235	23050	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Панитумаб-tag1-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (6+)
CD19	22236	23051	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Панитумаб-tag2-citux-Mimotope1-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (4+)
CD19	22237	23052	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Панитумаб-tag3-citux-Mimotope1-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (5+)
CD19, CD20	22238	23053	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-IgSP-ГерцепMimotopx3-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-	Raji (+)

			РАС	
CD19	22239	23054	CD8SP-RitX2-G4S-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Герцептин-Mimotag-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (+)
CD19	22240	23055	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-RituxGAtag-Герцептин-Mimotag-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (3+)
CD19	22241	23056	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-RitxGA4-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (4+)
CD19	22242	23057	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-Цитуксимаб-mimotopx2-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (5.5+)
CD19-CD20-Ритуксимаб	22243	23058	CD8SP-R5pL-tag-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-РАС	Raji (3+)
CD19-Ритуксимаб	22244	23059	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-R8-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (+/-)
BCMA-CD19	22245	23060	CD8SP-BCMA-FH VH-93-MMP14-1-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (-), Raji-CD19-KO (+), Nalm6 (+/-), L363 (+/-), U266 (+),
BCMA-CD20	22246	23061	CD8SP-BCMA-FH VH-93-MMP9x2-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-РАС	Raji (-), Raji-CD19-KO (1.5+), Nalm6 (+), L363 (+), U266 (2+)

CD19- Herceptin	22247	23062	CD8SP-Герцептин-Mimotag- Катепсин-S-hu-mROO5-vL- [hTCRb-КАСИАH]-F-P2A- IgHSP-CD20-vHH2-HCD25- G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH- [hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	Raji (2+)
CD19-HER2	22248	23063	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1- vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A- IgHSP-Герцептин-Mimotag- MMP1-CD19-hu-mROO5-1- vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A- PAC	Raji (3+)
CD19-BCMA	22249	23064	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1- vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A- IgHSP-BCMA917-vHH-E59D- MMP14-2-CD19-hu-mROO5- 1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F- F2A-PAC	Raji (+), Raji- CD19-KO (2+), Nalm6 (2.5+), L363 (2+), U266 (4+), RS411 (+)
CD19-BCMA	22250	23065	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1- vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A- IgHSP-BCMA917-vHH-E59D- MMP1-CD19-hu-mROO5-1- vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A- PAC	Raji (1.5+), Raji- CD19-KO (4+), Nalm6 (3+), L363 (3+), U266 (5+), RS411 (2+)

SAR С АДАПТЕРНЫМИ СВЯЗЫВАЮЩИМИ ДОМЕНАМИ

Была создана панель двухцепочечных SAR на каркасе конструкций SIR и Ab-TCR, включающая разные адаптерные связывающие домены. Примерная SAR-конструкция с SEQ ID NO: 22286 содержала сконструированный домен NKG2D-YA, присоединенный к N-концу кодируемого IgCL-фрагмента SAR с каркасом Ab-TCR (таблица 48). Конструкция с SEQ ID NO: 22287 кодирует домен NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA, присоединенный к кодируемому фрагменту vH hu-mROO5-1 Ab-TCR через линкер G4S. Конструкции были экспрессированы в клетках JNG и показали устойчивую индукцию GFP при воздействии на клетки CD19+ и BCMA+ Raji. Что еще более важно, клетки JNG продемонстрировали индукцию GFP при воздействии на клетки LNCaP только в присутствии SAR-адаптера PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3 (SEQ ID NO: 23114), который содержит chVH-мишень для PSMA, объединенную через линкер G4S с неприродным лигандом ULBP2-S3, который специфически связывается с NKG2D-YA (таблица 48). По существу аналогичные результаты были получены с конструкцией с SEQ ID NO: 22288 (таблица 48). Однако конструкция с SEQ ID NO: 22289, которая кодирует NKG2D-YA, объединенная непосредственно с константной цепью TCRb без линкера Ig, не продемонстрировала индукции GFP в ответ на PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3.

SAR-конструкция, представленная SEQ ID NO: 22292, кодирует домен D (Afo3),

способный связываться с доменом p26, присоединенный к N-концу кодируемого фрагмента vL из SIR на основе hu-mROO5-1. Клетки JNG, экспрессирующие эту конструкцию, продемонстрировали устойчивую индукцию GFP при воздействии на клетки L428 (CD123+), но только в присутствии SAR-адаптера bc40-p26-CD123-cg06 (SEQ ID NO: 23120), который содержит домен p26, объединенный с D-доменом, нацеленным на CD123 (таблица 48).

Биспецифическая CD19xCD20 SAR-конструкция, представленная SEQ ID NO: 22293, также кодирует домен лейциновой молнии RZIP, который связывается с доменом лейциновой молнии EZIP, присоединенным к N-концу кодируемого фрагмента vL из SIR, нацеленного на CD19, на основе hu-mROO5-1. Конструкция также кодирует домен CD20-VNH-USC1-2HCD26, присоединенный к домену vH hu-mROO5-1. Клетки JNG, экспрессирующие эту конструкцию, продемонстрировали устойчивую индукцию GFP при воздействии на клетки L363 (BCMA+), но только в присутствии SAR-адаптера BCMA-FHVN-74-EZIP (SEQ ID NO: 23119), который содержит домен BCMA-FHVN-74, объединенный с доменом лейциновой молнии EZIP (таблица 48). Кроме того, клетки JNG могут быть перенаправлены на клетки LNCaP (PSMA+) в присутствии SAR-адаптера CD8SP-PSMA-USC76-chVN-EZIP (SEQ ID NO: 23118) (таблица 48). Более слабые результаты были получены с конструкцией с SEQ ID NO: 22294, в которой домен RZIP присоединен непосредственно к укороченной цепи TCR [hTCRb-wt-opt2-6MD] с коротким линкером GS и без линкера Ig или длинного линкера. Эти результаты снова демонстрируют потребность в линкере Ig, переменном домене (например, vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd) или длинном линкере (>25 аминокислот), когда AABD функционально связан с константной цепью TCR в SAR.

SAR-адаптеры для предыдущих экспериментов получали путем транзиторной трансфекции их соответствующих экспрессирующих конструкций в клетки 293FT, а надосадочные жидкости, содержащие секретированные белки адаптера, собирали через 48-72 часа после трансфекции и замораживали до применения.

Получали дополнительные SAR-конструкции, содержащие два или более адаптера, которые либо присоединены к двум отдельным цепям двухцепочечного SAR, либо присоединены в тандеме к одной из цепей с помощью необязательного короткого линкера (например, линкера G4S). Также показано, что эти конструкции связываются с соответствующими клетками, экспрессирующими антиген-мишень, и реагируют на них в присутствии соответствующего SAR-адаптера.

Дополнительные конструкции создаются путем объединения одного или нескольких адаптеров с N-концом кодируемого scFv из CAR 2-го поколения, TFPε, TFPγ

или TFPδ. Также показано, что эти конструкции связываются и реагируют на свои соответствующие клетки, экспрессирующие антиген-мишень, в присутствии их SAR-адаптеров. Эти результаты демонстрируют, что биспецифичные и мультиспецифичные SAR, кодирующие один или несколько адаптеров (например, домены лейциновой молнии, домены D и т.п.), могут быть получены путем объединения адаптера с N-концом или вблизи N-конца CAR, SIR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP или TCR, содержащих домены vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd, scFv или AABD.

Таблица 48. SAR с доменами связывания адаптера

АНТИГЕН	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
CD20-CD19, ULBP2-S3	22286	23101	CD8SP-NKG2D-YA-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (+), LNCaP (-), LNCaP c PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3 (+)
BCMA-CD19, ULBP2-S3	22287	23102	CD8SP-BCMA-FHVH-93-G4S-hu-mROO5-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgH-SP-NKG2D-YA-G4Sx3-NKG2D-YA-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3+), L363 (+/-), LNCaP (-), LNCaP c PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3 (+)
CD20, ULBP2-S3	22288	23103	CD8SP-NKG2D-YA-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-NKG2D-AF-Y119F-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	Raji (3+), LNCaP (-), LNCaP c PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3 (+),
ULBP2-S3	22289	23104	CD8SP-NKG2D-YA-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-NKG2D-AF-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (-), LNCaP (-), LNCaP + PSMA-USC76-chVH-G4S-ULBP2-S3 (-),
CD19, p26	22292	23107	CD8SP-Af03-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	L428 (-), L428 c bc40-p26-CD123-cg06 (+3)
CD19, CD20, RZIP	22293	23108	CD8SP-CD8SP-R1-Rzip-G4S-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	LnCAP (-), LnCAP c PSMA-USC76-chVH-EZIP (+5.5), L363 (-), L363 c BCMA-FHVH-74-EZIP (+3)
CD22, RZIP	22294	23109	CD8SP-CD22-FHVH-24-GS-[TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-CD8SP-R1-RZip-GS-[hTCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-PAC	L363 (-), LNCaP (-), LNCaP c PSMA-USC76-chVH-EZIP (+1)

SAR, содержащие аутоантигены

Примерный SAR, содержащий аутоантиген Dsg3, представляет собой CD8SP-Dsg3-EC1-EC2-L693-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-humanROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 22307). JNG, экспрессирующие эту SAR-конструкцию, показали повышенную индукцию GFP при экспонировании клеткам Raji, экспрессирующим закрепленный на мембране scFv, нацеленный на Dsg3, по сравнению с индукцией GFP, наблюдаемой с родительскими клетками Raji. Дополнительные примерные SAR, содержащие различные домены Dsg3, представлены SEQ ID NO: 22308-22312. Т-клетки, экспрессирующие эти SAR, используются для истощения аутоантител Dsg3, продуцирующих В-клетки и плазматические клетки, у пациента с вульгарной пузырчаткой. Точно так же Т-клетки, экспрессирующие SAR, нацеленные на Dsg1, могут быть получены с применением дизайна вышеуказанных конструкций и могут быть использованы для истощения аутоантител к Dsg1, продуцируемых В- и плазматическими клетками у субъекта с листовидной пузырчаткой (*pemphigus foliaceus*, PF).

SAR, содержащие лиганды

Типичные биспецифичные SAR на каркасе SIR, нацеленного на CD19, содержащие рецептор-связывающий домен лигандов 4-1BB (SEQ ID NO: 22252) и APRIL (SEQ ID NO: 22253-22254), были созданы и экспрессированы в клетках JNG. Клетки сохраняли способность реагировать на клетки Raji (CD19+) при совместном культивировании, что определяли по индукции GFP.

SAR, содержащие одиночный переменный домен TCR (svd-TCR)

Примеры биспецифичных SAR на каркасе SIR, нацеленного на CD19, содержащих svd-TCR, нацеленный на HLA-A*02:01, в комплексе с пептидом NY-ESO-1 157 человека (SEQ ID NO: 21461) и пептидом MAGE-A2 (SEQ ID NO: 21464) были созданы и экспрессированы в клетках JNG путем транзитного инфицирования соответствующими лентивирусами и без дальнейшего отбора по чувствительности к лекарственному средству. SEQ ID NO этих конструкций представлен SEQ ID NO: 22256-22257 и 22258-22262, соответственно. Клетки показали способность реагировать на клетки Raji (CD19+/CD20+) и клетки HepG2 (HLA-A*02:01/MAGE-A3+ и HLA-A*02:01/NY-ESO-1+) при совместном культивировании, что измерено по индукции GFP (Таблица 49). Клетки также тестировали на связывание с тетрамерами пептида NY-ESO-1/HLA-A02:01 и тетрамерами пептида MAGE-A02:01/HLA-A02:01 с помощью проточной цитометрии.

Получали дополнительные SAR-конструкции, содержащие два или более svd-TCR, которые либо присоединены к двум отдельным цепям двухцепочечного SAR, либо

присоединены в тандеме к одной из цепей с помощью необязательного короткого линкера (например, линкера G4S). Также показано, что эти конструкции связываются с клетками, экспрессирующими их соответствующие антигены-мишени, и вызывают в них ответ.

Дополнительные конструкции создаются путем объединения одного или нескольких svd-TCR с N-концом кодируемого scFv из CAR 2-го поколения, TFP ϵ , TFP γ или TFP δ . Также показано, что эти конструкции связываются с клетками, экспрессирующими их соответствующие антигены-мишени, и вызывают в них ответ. Эти результаты демонстрируют, что биспецифичные и мультиспецифичные SAR, кодирующие один или несколько svd-TCR, могут быть получены путем объединения svd-TCR с N-концом или вблизи N-конца CAR, SIR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP или TCR, содержащих домены vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd, scFv, AABD.

Таблица 49. SAR, Включающие svd-TCR

Антиген	SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
CD19, CD20, NY-ESO-1/HLA.A02:01	22256	23071	NY-ESO-sVb-TCR-G4Sv2-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	RAJI (+/-), HepG2 (-/+)
CD19, CD20, NY-ESO-1/HLA.A02	22257	23072	NY-ESO-sVb-TCR-G4Sv2-hu-mROO5-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	RAJI (2+), HepG2 (-/+)
CD19, CD20, MAGE-A3/HLA.A02	22258	23073	MAGE-A3-sVb-7-G4Sv3-hu-mROO5-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	RAJI (2.5+), HepG2 (2+)
CD19, CD20, MAGE-A3/HLA.A02	22259	23074	MAGE-A3-sVb-7-G4Sv3-hu-mROO5-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgHSP-CD20-VHH-USC1-2HCD26-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	RAJI (-/+), HepG2 (2+)
CD19, CD20, MAGE-A3/HLA.A02	22260	23075	MAGE-A3-sVb-7-G4Sv3-hu-mROO5-vL-IgCL-TCRg-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRd-6MD-F-F2A-PAC	RAJI (-/+), HepG2 (1.5+)
CD19, CD20, MAGE-A3/HLA.A02:01	22261	23076	MAGE-A3-sVb-7-G4Sv3-hu-mROO5-vL-IgCL-TCRb-wt2-opt-6MD-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2-HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH-IgG1-CH1-TCRa-wt2-opt-6MD-F-F2A-PAC	RAJI (+), HepG2 (1+)

CD19, CD20, MAGE- A3/HLA.A02:01	22262	23077	MAGE-A3-sVb-7-G4Sv3-hu-mROO5-vL- huTCRg-d5-F-P2A-IgHSP-CD20-vHH2- HCD25-G4S-CD19-hu-mROO5-1-vH- huTCRd-d2-F-F2A-Pac	RAJI (+), HepG2 (1.5+)
---------------------------------------	-------	-------	--	------------------------------

Экспрессия биспецифичных и мультиспецифичных SAR на остовах SIR, сTCR, AABD-TCR, Ab-TCR и TFP $\alpha\beta$ в Т-клетках с нарушенной экспрессией TCR α или TCR β .

SAR-конструкции на каркасах SIR, AABD-TCR и Ab-TCR также экспрессировали в клетках JNG, в которых экспрессия TCR α , TCR β или обоих была устранена путем генного нокаута, опосредованного CRISPR/Cas9. В отличие от результатов с SAR на каркасе TFP, наблюдалось, что SAR-конструкции на вышеуказанных каркасах эффективно экспрессируются на поверхности клеток TCR α -/-, TCR β -/- и TCR α -/- β -/- при аналогичных или более высоких уровнях, по сравнению с уровнями, наблюдаемыми в клетках JNG дикого типа, и обладают надежной сигнальной способностью при экспонировании клеткам, экспрессирующим антиген-мишень. Практически аналогичные результаты получали, когда SAR-конструкции на каркасах SIR, сTCR, AABD-TCR, Ab-TCR и TFP $\alpha\beta$ встраиваются в геномные локусы TRAC или TRBC, так что они экспрессируются под промотором и регуляторными элементами эндогенных генов TCR α или TCR β . Вставка SAR-конструкций в локусы TRAC и TRBC, которая приводит к одновременному нарушению этих генов, достигается с помощью направленного воздействия на гены, как описано в Knipping F et al, *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development*, Vol 4, 2017 и Eyquem J et al *Nature*, 543(7643):113-117, 2017, соответственно. Примерная конструкция для направленного воздействия для направления SAR в локус TRAC представлена в SEQ ID NO: 23. Дополнительные конструкции для направленного воздействия могут быть созданы путем замены модуля, кодирующего SAR в этой конструкции, на модуль, кодирующий другой SAR на каркасах SIR, сTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP $\alpha\beta$, TFP $\gamma\delta$ и TCR с применением методов, известных в данной области техники.

Биспецифичный и мультиспецифичный анализ *in vitro* и *in vivo*.

Анализ *in vitro* и *in vivo* биспецифичных и мультиспецифичных SAR

Набор биспецифичных и мультиспецифичных SAR-конструкций (SEQ ID NO: 22098, 22104-22108, 22165) экспрессировали в Т-клетках и тестировали на цитотоксичность *in vitro* в отношении клеток RAJI, RAJI-CD19-KO, NALM6 и HL60. Моноспецифичные SAR-конструкции с SEQ ID NO: 22101-22103 использовали в качестве контролей. Показано, что биспецифичные и мультиспецифичные конструкции обладают выраженной цитотоксичностью как в отношении клеток CD19⁺ RAJI, так и в отношении

клеток RAJI-CD19-KO, а также в отношении клеток NALM6, в то время как моноспецифичные конструкции неактивны в отношении клеток RAJI-CD19-KO. SAR-T-клетки тестировали на *in vivo* модели клеток RAJI и RAJI-CD19-KO, ксенотрансплантированных мышам NSG. Биспецифичные и мультиспецифичные SAR-T-клетки проявляли сильную противоопухолевую активность в отношении обеих клеточных линий, в то время как моноспецифичные конструкции неактивны в отношении клеток RAJI-CD19-KO.

Разные SAR-конструкции

Биспецифичные конструкции, в которых vHH или FHvH, или центрин, или аффибоди, или другой неиммуноглобулиновый антигенсвязывающий домен функционально связаны с N-концом фрагмента vL или vH двухцепочечного SIR, сохраняют свою активность против двух или более антигенов. Таким образом, представленные далее биспецифичные конструкции были положительными в анализах индукции JNG-GFP как против клеток RAJI WT, которые экспрессируют CD19, так и против клеток RAJI CD19 KO A7, у которых отсутствует экспрессия CD19. Эти клоны также были высокоположительными в отношении клеток DAUDI и RS;411. Напротив, соответствующие моноспецифичные конструкции были отрицательными в отношении клеток RAJI CD19 KO A7, что свидетельствует о том, что они неспособны распознавать и сигнализировать в ответ на антиген CD20, который также экспрессируется на клетках RAJI дикого типа и RAJI CD19 KO A7. Такие биспецифичные конструкции представлены следующей последовательностью и SEQ ID No. В конструкциях, представленных (SEQ ID NO: 4090 и SEQ ID NO: 15711), (SEQ ID NO: 4088 и SEQ ID NO: 15709) и (SEQ ID NO: 4089 и SEQ ID NO: 15710), CD20-vHH-2HCD25-связывающий домен функционально связан с N-концом hu-mROO5-1-vH, который, в свою очередь, функционально связан с константными цепями TCR [hTCRa-T48C], [hTCRb-KACIAH] или [hTCRa-CSDVP], соответственно. Цепь hu-mROO5-1-vL в этих конструкциях функционально связана с цепями [hTCRb-S57C], [hTCRa-CSDVP] или [hTCRb-KACIAH], соответственно. Таким образом, в этих трех конструкциях hu-mROO5-1-vL и hu-mROO5-1-vH объединяются с образованием Fv, нацеленного на CD19, при этом AABD, представленный CD20-vHH-2HCD25, нацелен на CD20. Приведенные выше результаты демонстрируют, что присоединение CD20-vHH-2HCD25 к N-концу hu-mROO5-1-vH не влияет на способность hu-mROO5-1-vH объединяться с цепью hu-mROO5-1-vL с образованием фрагмента Fv. Приведенные выше результаты дополнительно демонстрируют, что полученный Fv-фрагмент, в котором CD20-vHH-2HCD25 функционально связан с N-концом hu-mROO5-1-vH, по-прежнему сохраняет свою способность распознавать и связываться с CD19 и

индуцировать Т-клеточный сигнал при связывании с CD19-экспрессирующими клетками.

В отличие от приведенных выше конструкций биспецифичный SAR, представленный CD8SP-CD20-vHH-C07-G4S-CD19-huCD19USC3-vL-[hTCRb-S57C-opt]-F-P2A-SP-huCD19USC3-vH-[hTCRa-T48C -opt]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 1330 и SEQ ID NO: 12020) имеет каркас SIR, содержащую фрагменты CD19-huCD19USC3-vL и CD19-huCD19USC3-vH, которые объединяются с образованием Fv, нацеленного на CD19. В этом SAR AABD, нацеленный на CD20 и представленный CD20-vHH-C07, функционально связан с N-концом цепи CD19-huCD19USC3-vL. Эта SAR-конструкция способна индуцировать передачу сигналов Т-клеток и экспрессию GFP при совместном культивировании с клетками RAJI (CD19+/CD20+), RAJI CD19 KO A7 (CD19-/CD20+), DAUDI (CD20+) и RS411 (CD19+). Для сравнения, моноспецифическая конструкция CD8SP-huCD19-USC3-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-huCD19-USC3-vH-[hTCRa-T48C]-F-F2A-PAC (SEQ ID NO: 1244 и SEQ ID NO: 11934) не способна индуцировать экспрессию GFP при совместном культивировании с клетками RAJI CD19 KO A7 (CD19-/CD20+). Приведенные выше результаты демонстрируют, что присоединение AABD (т.е. CD20-vHH-C07) к N-концу CD19-huCD19USC3-vL через линкер Gly-Ser не влияет на способность фрагмента vL объединяться с комплементарным ему фрагмент vH (т.е. huCD19-USC3-vH) с образованием Fv, который может распознавать антиген-мишень (т.е. CD19) и индуцировать клеточную передачу сигналов. Приведенные выше результаты дополнительно демонстрируют, что AABD (например, vHH или SVH), который функционально связан с N-концом фрагмента vL, сохраняет свою способность связываться со своим антигеном-мишенью и индуцировать передачу сигналов Т-клетками при экспрессии в составе SAR.

Было замечено, что клетки JNG, экспрессирующие конструкцию CD8SP-CD22-FHVH-24-[IgCL-TCRg-6MD]-F-P2A-SP-BCMA-FHVH-93-[IgG1-CH1-TCRd-6MD]-F-F2A-PAC, который представлен SEQ ID NO: 6821 и SEQ ID NO: 17511, сильно индуцировал экспрессию GFP при совместном культивировании с RAJI (CD19+) и L363 (BCMA+), что позволяет предположить, что они могут распознавать и реагировать как на CD22, так и на BCMA. По существу, такие же результаты были получены при повторении эксперимента с клетками JNG, экспрессирующими конструкцию CD8SP-CD22-FHVH-24-[IgCL-TCRb-wt-opt2-6MD]-F-P2A-SP-BCMA-FHVH-93-[IgG1-CH1-TCRa-wt-opt2-6MD]-F-F2A-PAC, который имеет SEQ ID NO: 6812 и SEQ ID NO: 17502, соответственно.

Поскольку SAR имеют модульную конструкцию, последовательности различных SAR, описанных в этом раскрытии, могут быть определены по их названиям, которые описывают порядок их различных составных модулей.

ПРИМЕНЕНИЕ МИМЕТИКОВ SMAC ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОК SAR-T.

Т-клетки инфицировали SAR (SEQ ID NO: 7348) с каркасом SIR, нацеленным на CD19, а затем размножали в среде для культивирования Т-клеток (среда XVIVO, замещенная 10 нг/мл антитела к CD3, 10 нг/мл антитела к CD28 и 100 МЕ рекомбинантного человеческого IL2 при 37°C в увлажненном инкубаторе с 5% CO₂ в отсутствие и в присутствии двух разных концентраций миметика SMAC Birinapant (100 нМ или 1 мкМ) в течение 16 дней. Неинфицированные Т-клетки (T-UI) и SIR-T-клетки тестировали на цитотоксичность в отношении клеток-мишеней RAJI, экспрессирующих Gluc, с применением анализа MATADOR при соотношениях E:T 0,25:1 и 0,5:1 в течение 4 часов в 384-луночной планшете. Анализ Matador выполняли путем добавления 1:100 CTZ в PBS по 15 мкл/лунку в луночном режиме с применением инъекторов. Размножение SAR-T-клеток в присутствии миметика SMAC приводила к дозозависимому увеличению уничтожения клеток RAJI, при этом не оказывая влияния на неспецифическое уничтожение неинфицированными контрольными Т-клетками.

Т-клетки активировали в течение ночи с помощью гранул CD3/CD28, после чего трижды заражали CAR 2-го поколения, нацеленным на CD19 (SEQ ID No: 7343) и SIR CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-E02, нацеленным на CD19 (SEQ ID NO: 7348). Клетки размножали в среде XVIVO в стандартных условиях в присутствии гранул IL2 и CD3/CD28 в отсутствие или в присутствии 1 мкМ биринапанта в течение 7 дней. Через 7 дней клетки анализировали с помощью проточной цитометрии на экспрессию различных маркеров клеточной поверхности. Было показано, что размножение CAR-T и SIR-T клеток *in vitro* в присутствии биринапанта приводит к увеличению доли CD8-клеток, снижению количества CD4-клеток и увеличению количества CD62L-клеток, что является маркером наивных Т-клеток со свойствами стволовых клеток.

1×10⁵ Т-клеток, размноженных в течение 7 дней в присутствии биринапанта, совместно культивировали с 1×10⁵ клеток Nalm6 в течение 48 часов в 96-луночной планшете. Через 48 часов надосадочную жидкость собирали и использовали для измерения IFN γ , TNF α и IL-2 с помощью ELISA. Не наблюдалось значительного снижения секреции IFN γ , TNF α или IL2 после обработки биринапантом.

Чтобы проверить эффективность *in vivo* различных CAR-T-клеток, мышам NSG вводили через хвостовую вену 0,5×10⁶ клеток Nalm6, стабильно экспрессирующих термостабильную люциферазу LucPPE (NALM6-LucPPE), а через три дня вводили 5×10⁶ контрольных Т-клеток и Т-клеток, экспрессирующих конструкции CAR 2-го поколения, представленные SEQ ID NO: 7343, и SIR, представленные SEQ ID NO: 7348. Животных

визуализировали еженедельно с помощью биолюминесцентной визуализации после инъекции D-люциферина. У животных, которым вводили контрольные Т-клетки, наблюдался значительный рост опухоли, и все они умерли к 40-му дню. У животных, которым вводили Т-клетки, экспрессирующие SEQ ID NO: 7343 и 7348, которые были размножены в течение 7 дней в отсутствие или в присутствии биринапанта (1 мкМ), заболевание исчезло, и они оставались здоровыми до 100-го дня, за исключением одного животного, которому вводили Т-клетки, экспрессирующие SEQ ID NO 7343, которые были размножены в присутствии биринапанта. В целом, приведенные выше результаты демонстрируют, что Т-клетки, экспрессирующие SIR, сохраняют свою эффективность *in vitro* и *in vivo* при размножении в присутствии биринапанта. Результаты также показали, что клетки, экспрессирующие LucPPE, можно использовать для мониторинга роста раковых клеток *in vivo* с помощью биолюминесцентной визуализации.

Использование газопроницаемой культуральной посуды для быстрого размножения (G-Rex) для размножения клеток SIR-T

Первичные Т-клетки человека трижды инфицировали CAR 2-го поколения, нацеленным на CD19 (SEQ ID NO: 7343), и SIR, нацеленным на CD19 (SEQ ID NO: 7348). Один набор клеток Т-CAR культивировали в 6-луночных планшетах G-Rex (кат. № 80240M, Wilson Wolf Corporation), где 1,25 миллиона Т-клеток высевали в каждую лунку, содержащую 35 мл среды для культивирования Т-клеток.

Свежую среду меняли в чашках G-Rex через каждые 5 дней и через 3 дня в клетках, культивируемых в обычных культуральных флаконах в нормоксических условиях.

Свежую среду меняли в чашках G-Rex через каждые 7 дней в эксперименте с гипоксией и через 3 дня в клетках, культивируемых в обычных культуральных флаконах.

В условиях гипоксии вместо увлажняемого инкубатора с 5% CO₂ для нормальных условий использовался увлажняемый инкубатор с 4% O₂.

После 3 инфекций клетки анализировали с помощью проточной цитометрии на 5-й день с протеином L, и было обнаружено, что примерно 45% клеток экспрессируют SIR на клеточной поверхности. Клетки осаждали и повторно суспендировали в Т-клеточной среде XVIVO-15 (Lonza) с добавлением PSA, 100 ME/мл рекомбинантного человеческого IL2 и Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 и 5% сыворотки hAB. Один набор клеток SIR-T культивировали в 6-луночных планшетах G-Rex (кат. № 80240M, Wilson Wolf Corporation), где 1,25 миллиона Т-клеток высевали в каждую лунку, содержащую 35 мл среды для культивирования Т-клеток. Свежие среды меняли в чашках G-Rex через каждые 5 дней. Другой набор клеток SIR-T культивировали в 10 мл среды в обычном флаконе для тканевых культур. Свежую среду меняли в планшетах G-Rex каждые 5 дней и через 3 дня

в клетках, культивируемых в обычных культуральных флаконах. После 14-дневного размножения клетки тестировали на цитотоксичность в отношении клеток Nalm6-Gluc с применением анализа Matador. Клетки SIR-T сохраняли свою цитотоксичность в отношении клеток-мишеней при выращивании во флаконах GRex.

Клетки анализировали с помощью проточной цитометрии на экспрессию SIR путем окрашивания протеином L и на наличие различных Т-клеточных маркеров. Клетки SIR-T, размноженные во флаконе G-Rex, показали значительно более высокую экспрессию SIR, что определялось окрашиванием протеина L (53,7% против 46,53%), и более высокую долю клеток CD8 (80,34% против 68,37%), клеток CCR7 (65,69% против 36,34%), CD62L (62,87% против 51,99%) и CD45RA (91,94% против 45,91%). Поскольку известно, что клетки CCR7+/CD45RA+/CD62L+ обладают свойствами стволоподобных Т-клеток, приведенные выше результаты показывают, что культивирование SIR-T во флаконах GRex приводит к размножению клеток с иммунофенотипом стволоподобных Т-клеток (Tscm) и предотвращает их терминальную дифференциацию. Результаты дополнительно демонстрируют, что размножение клеток SIR-T во флаконах GRex приводит к предпочтительному размножению клеток CD8.

Контрольные Т-клетки или клетки SIR-T, выращенные в обычной колбе или 6-луночном планшете G-Rex, культивировали с Nalm6-hGLuc 100К/луночку/100 мкл в 96-луночном планшете с U-образным дном в среде XVIVO без дополнительного компонента. Через 48 часов совместного культивирования надосадочную жидкость собирали и использовали для ELISA. Было показано, что клетки SIR-T, размноженные в планшетах GRex, продуцируют больше IFN γ , TNF α и IL2 при культивировании с клетками NALM6, экспрессирующими их антиген-мишень (например, CD19), по сравнению с клетками SIR-T, размноженными в обычном флаконе. Кроме того, исходное (т.е. в отсутствие клеток NALM6) продуцирование IFN γ и TNF α была ниже в клетках SIR-T, размноженных во флаконе GRex, что свидетельствует о низкой тонической передаче сигналов.

Сравнение *in vivo* клеток SIR-T, размноженных в обычных флаконах и флаконах GRex

Клетки SIR-T из предыдущего эксперимента, которые были размножены в обычном флаконе T75 или во флаконе GRex, сравнивали по эффективности *in vivo* с применением модели ксенотрансплантата Nalm6-LucPpe у мышей NSG. Для этой цели $0,5 \times 10^6$ клеток Nalm6, экспрессирующих LucPpe, вводили мышам NSG посредством инъекции в хвостовую вену. Через два дня животным вводили увеличивающееся количество SIR-T клеток (2×10^6 , 4×10^6 , 8×10^6) на животное. Животных визуализировали с помощью билюминесцентной визуализации после инъекции D-люциферина. Животные,

получавшие SIR-T клетки, размноженные во флаконе GRex, продемонстрировали превосходный контроль над лейкозом, что было определено с помощью биолюминесцентной визуализации, что также привело к улучшению выживаемости. Этот эксперимент также демонстрирует, что LucPPE и другие термостабильные люциферазы жуков могут использоваться для мониторинга роста опухоли *in vivo* с помощью биолюминесцентной визуализации после инъекции D-люциферина.

Эксперимент повторяли путем размножения Ab-TCR-T клеток, TFP-T клеток, TAC-T клеток, нацеленных на CD19. Наблюдалось, что размножение Ab-TCR-T и TFP-T клеток во флаконах GRex обеспечивает превосходное размножение, сохранение фенотипа стволовых T-клеток и превосходный контроль над опухолью *in vivo*. Наконец, эксперимент повторяли путем размножения биспецифичных и мультиспецифичных SIR-T, Ab-TCR-T и TFP-T, и снова показано, что размножение с применением флаконов GRex приводит не только к превосходному размножению, но также к превосходным характеристикам *in vitro* и *in vivo*.

Размножение на планшетах G-Rex в условиях гипоксии

Эксперимент, описанный в предыдущем разделе, повторяли с применением CAR 2-го поколения, нацеленного на CD19 (SEQ ID No: 7343), и SIR, нацеленного на CD19 (SEQ ID NO: 7348). T-клетки трижды инфицировали лентивирусными векторами, кодирующими SIR и CAR, а затем 1 миллион клеток, инфицированных каждой конструкцией SIR/CAR, культивировали в обычных флаконах T75 или флаконах GRex, как описано в предыдущем разделе. Один набор из каждого типа флаконов культивировали в нормальных условиях оксигенации, тогда как другой набор культивировали в условиях гипоксии. В условиях гипоксии вместо увлажняемого инкубатора с 5% CO₂ для нормальных условий использовался увлажняемый инкубатор с 4% O₂.

Через 13 дней культивирования клетки подсчитывали и анализировали с помощью проточной цитометрии. Размножение клеток в условиях гипоксии во флаконах с культурой нормальных тканей приводило к более низкому уровню размножения. Таким образом, неинфицированные T-клетки (T-UI), CAR-T и SIR-T, культивируемые в обычных флаконах, увеличились с 1 миллиона до 6, 6 и 9 миллионов клеток, соответственно в нормоксических условиях, но увеличились до 4,4, 5,2 и 6 миллионов клеток, соответственно в условиях гипоксии. Напротив, экспансия во флаконах GRex привела к 80, 85, 84 миллионам клеток, соответственно в нормоксических условиях и 70, 70 и 72 миллионам клеток, соответственно, в условиях гипоксии. Таким образом, размножение во флаконах GRex не только приводит к гораздо большему размножению клеток CAR-T и

SIR-T, но также приводит к значительному размножению даже в условиях гипоксии, что позволяет производить достаточное количество клеток для клинического введения. Этот момент важен, поскольку неспособность произвести достаточное количество клеток CAR-T и SIR-T является основной причиной сбоя продуцирования в области CAR-T и SIR-T.

Дальнейшее размножение CAR-T и SIR-T во флаконе GREX в условиях гипоксии приводило к более высокой доле Т-клеток, экспрессирующих CAR и SIR, более высокой доле CD8⁺ клеток и более высокой доле клеток, экспрессирующих маркеры, связанные со стволовыми Т-клетками (т.е., CD45RA, CCR7 и CD62L).

Клетки, размноженные в различных условиях, тестировали на цитотоксичность в отношении клеток NALM6, экспрессирующих Gluc, с применением анализа Matador. Было показано, что все клеточные популяции демонстрируют цитотоксичность. Надосадочную жидкость из разных клеточных популяций тестировали на предмет продуцирования цитокинов при совместном культивировании с клетками NALM6. Было показано, что все клеточные популяции продуцируют IFN γ , TNF α и IL2 при совместном культивировании с клетками NALM6.

Наконец, различные клеточные популяции сравнивали на эффективность *in vivo* в модели ксенотрансплантата NALM6 с применением мышей NSG. Эксперимент проводили, как в предыдущем примере, путем инъекции 0,5 миллиона клеток NALM6-LucPPE через хвостовую вену с последующим введением через 2 дня 2 миллионов клеток CAR-T или SIR-T, выращенных в нормоксических или гипоксических условиях во флаконах GREX. Результаты показали, что клетки SIR-T, размножающиеся во флаконе GREX в условиях гипоксии, работают так же хорошо, как и клетки, размножающиеся в нормальных условиях, в то время как клетки CAR-T, размножающиеся в условиях гипоксии, работают хуже, чем клетки, размножающиеся в нормоксических условиях.

Сравнительный анализ Мезотелин (MSLN) SAR с различными антигенсвязывающими доменами

Мезотелин высоко экспрессируется в некоторых видах рака, но также демонстрирует низкий уровень экспрессии в нормальных здоровых тканях. Чтобы уменьшить аффинность настроенных SAR, нацеленных на MSLN, было создано несколько мутантов гуманизированного антитела, специфичного к MSLN, MSLN-hu22A10 и MSLN-7D9. SEQ ID NO фрагментов vL, vH и их областей CDR представлены в таблице 39. Различные мутантные фрагменты vL и vH дикого типа собирали для создания SAR-конструкций на каркасе двухцепочечного SIR. Название, состав цепи и SEQ ID различных SAR-конструкций представлены в таблице 50. Клетки JNG получали, экспрессируя различные SAR-конструкции, нацеленные на MSLN, клонированные в векторе pCCLc-

MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 4). В случае конструкций, коэкспрессирующих PAC, клетки также отбирали с применением пурамицина. Затем клетки тестировали на трансдукцию GFP после инкубации с клеточными линиями SKOV3 (MSLN-высокий), MCF7 (MSLN-низкий), PC3 (MSLN-средний), MDA-MB-231 (MSLN низкий), LNCaP (MSLN низкий), Huh-7 (MSLN-низкий) и RAJI (MSLN-ve), соответственно. Как показано в Таблице 50, разные клетки MSLN SAR показали варьирующий уровень индукции GFP при совместном культивировании с линиями клеток-мишеней с разными уровнями экспрессии MSLN. Клетки JNG, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO (DNA): 21873 и SEQ ID NO (PRT): 22688, показали самую сильную индукцию GFP в ответ на клеточные линии SKOV-3 и MDA-MB-231, которые экспрессируют высокие уровни MSLN, но также продемонстрировали умеренную индукцию GFP при совместном культивировании клеток PC3, которые экспрессируют количество MSLN от низкого до умеренного, но не показали индукции GFP при совместном культивировании с клетками MCF7, которые экспрессируют низкие уровни MSLN. Этот SAR содержит фрагменты hu22A10-N31S-vL и hu22A10-F27Y-vH. SEQ ID NO этих фрагментов и их CDR1-3 представлены в таблице 39. SAR с SEQ ID NO: 22691 аналогичен, но немного слабее. Этот SAR также показал значительную индукцию GFP при совместном культивировании с клетками PC3, демонстрирующими умеренные уровни MSLN. Этот SAR включает фрагменты hu22A10-N31S-vL и hu22A10-vH дикого типа. SAR с SEQ ID NO (PRT): 22687, 22692 показал более слабую, но достаточную индукцию GFP с SKOV3 и отсутствие или незначительную индукцию GFP с клеточной линией PC3. SAR с SEQ ID NO:22694 показал самую низкую индукцию GFP среди панели против клеток SKOV-3. Этот SAR содержит фрагменты MSLN-hu22A10-Y96W-vL и MSLN-hu22A10-vH дикого типа.

Эти результаты показывают, что можно создавать нацеленные на MSLN SAR, настроенные по аффинности и модифицированные по чувствительности, путем включения различных мутаций во фрагменты vL и vH. SAR с активностью против клеток, умеренно экспрессирующих MSLN (например, PC3), могут быть более подходящими, если возникает проблема рецидива заболевания из-за ускользания антигена. Напротив, MSLN SAR с незначительной активностью или отсутствием активности в отношении клеток, умеренно экспрессирующих MSLN (например, клеток PC3), может быть более подходящим для ослабленных пациентов или в тех случаях, когда безопасность является первостепенной задачей.

Эти фрагменты vL и vH используются для создания разнообразной панели моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, нацеленных на MSLN, чьи SEQ ID NO: представлены SEQ ID NO: 22540-22581. Могут быть созданы

дополнительные мутанты MSLN-hu22A10, которые можно использовать в альтернативном воплощении изобретения. SEQ ID NO других фрагментов vL, vH, scFv, нацеленных на MSLN, также представлены в таблицах 3 и 39. Эти фрагменты vL, vH и scFv используются для создания разнообразной панели моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, нацеленных на MSLN.

В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на MSLN, который при экспрессии в клетках JNG вызывает менее 10% индукции GFP, когда клетки JNG, экспрессирующие SAR, совместно культивируют в течение 24 часов с клетками PC3. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на MSLN, который при экспрессии в клетках JNG вызывает менее 10% индукции GFP при совместном культивировании в течение 24 часов с MSLN-отрицательной клеточной линией. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на MSLN, который при экспрессии в клетках JNG вызывает более чем 20% индукцию GFP при совместном культивировании в течение 24 часов с клетками SKOV3.

T-клетки, экспрессирующие различные SAR-конструкции, нацеленные на MSLN, создаются и демонстрируют *in vitro* цитотоксичность в отношении клеток PC3 и SKOV3 с применением анализа Matador. Также показано, что SAR-T-клетки индуцируют продуцирование цитокинов (TNF α , IFN γ и IL2) при воздействии на клетки-мишени. T-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 22686-22695, тестировали на противоопухолевую активность *in vivo* в отношении модели ксенотрансплантата SKOV-3 с применением мышей NSG с иммунодефицитом. В качестве контроля использовали соответствующие CAR 2-го поколения на фоне BBz. T-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 22685-22695, демонстрируют эффективную борьбу с опухолью, измеренную с помощью биолуминесцентной визуализации, и приводят к повышению выживаемости животных. T-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 22685-22695, также проявляют более высокую активность *in vivo* по сравнению с CAR 2-го поколения, содержащими костимулирующий домен 4-1BB и домен активации CD3z.

Таблица 50. SAR, нацеленные на MSLN			
SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
21871	22686	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (2+)
21872	22687	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Y96W-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-F27Y-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (1.5+), MCF-7 (-), PC-3 (-), MDA-MB-231 (2+)

21873	22688	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-N31S-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-F27Y-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (5+), MCF-7 (-), PC-3 (3+), MDA-MB-231 (5+)
21874	22689	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-F27Y-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (3+)
21876	22691	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-N31S-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRα-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (-), SKOV-3 (2.5+), MDA-MB-231 (2.5+), MCF-7 (-), PC-3 (2+), LNCaP (-), Huh-7 (-)
21877	22692	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Y96W-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRα-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (-), SKOV-3 (1.5+), MDA-MB-231 (+), MCF-7 (-), PC-3 (+), LNCaP (-), Huh-7 (-)
21878	22693	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-N31S-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRα-T48C-opt]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (2.5+)
21879	22694	CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Y96W-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRα-T48C-opt]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (+)
21880	22695	CD8SP-MSLN-7D9-vH-[hTCRβ-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-7D9-vL-[hTCRα-T48C-opt]-F-F2A-PAC	Raji (-), SKOV-3 (1.5+), MCF-7 (-), PC-3 (+), LNCaP (-), MDA-MB-231 (-), Huh-7 (-)

Показано, что Т-клетки, экспрессирующие вышеуказанные SAR MSLN, индуцируют цитотоксичность в экспрессирующих MSLN клетках SKOV3 с применением анализа Matador и индуцируют продуцирование цитокинов (например, TNFα, IFNγ, IL-2 и т.п.).

Затем SAR-Т-клетки тестировали на модели ксенотрансплантата SKOV3 у мышей NSG. Для этой цели 1×10^6 клеток SKOV3-Luc вводили подкожно, а через неделю делают внутривенную инъекцию 3×10^6 SAR-экспрессирующих Т-клеток. Мыши, которым вводили SAR-Т-клетки, демонстрировали разный уровень ингибирования опухоли и улучшение выживаемости. У мышей, получавших SAR-Т с SEQ ID NO: 10315, 10384, 10453, 10522, 10591 и 10660, наблюдалось ингибирование опухоли и улучшение выживаемости. Мыши, получившие SAR-Т с SEQ ID NO: 10311, 10380, 10449, 10518, 10587 и 10656, демонстрировали слабую защиту.

Сравнение BCMA SAR

BCMA SAR CD8SP-BCMA-hu72-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH-

[hTCRa-T48C-opt] (SEQ ID NO: 1473) с каркасом на основе двухцепочечного SIR был выбран для дальнейшей оптимизации путем мутагенеза его цепей vL и vH. Мутантные конструкции клонировали в лентивирусный вектор с геном устойчивости к пурамицину или без него. Нуклеотидная и аминокислотная SEQ ID NO: различных конструкций представлены SEQ ID NO (DNA): 21843-21870 и SEQ ID NO (PRT): 22658-22685, соответственно. Конструкции экспрессировали в клетках JNG с помощью переноса генов, опосредованного лентивирусами. В случае конструкций, несущих ген устойчивости к пурамицину, клетки JNG отбирали с помощью пурамицина для получения стабильно трансдуцированных клеток. Клетки JNG, экспрессирующие различные SAR-конструкции, сравнивали по их способности индуцировать экспрессию GFP при совместном культивировании в течение ночи с клетками L363, которые экспрессируют BCMA. Различные конструкции показали варьирующий уровень индукции GFP, управляемой NFAT. SAR-конструкции, представленные SEQ ID NO: 21843-21853, 21861, 21862 и 21870, показали стабильно более высокую индукцию GFP по сравнению с конструкциями, представленными SEQ ID NO: 21854-21860, 21863-21869. Самая высокая индукция GFP наблюдалась с конструкциями SP-BCMA-hu72-vL-S29G-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH-G32S-[hTCRa-T48C-opt] (SEQ ID NO: 21853) и SP-BCMA-hu72-vL-I27L-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-hu72-vH-S64T-[hTCRa-T48C-opt] (SEQ ID NO: 21852), соответственно. Клетки JNG, экспрессирующие эти конструкции, также не обнаруживали фоновой индукции GFP, отражая отсутствие тонической передачи сигналов. Кроме того клетки JNG, экспрессирующие эти конструкции, не продемонстрировали индукции GFP при совместном культивировании с клеточными линиями HL60 и THP-1, которые не экспрессируют BCMA. Эти конструкции имеют мутации S29G (SEQ ID NO: 10934) и I27L (SEQ ID NO: 10933) в их областях vL и мутации G32S (SEQ ID NO: 11179) и S64T (SEQ ID NO: 11173) в их областях vH. scFv, содержащий S29G и G32S, представлен SEQ ID NO: 11422.

Ряд моноспецифичных и биспецифичных SAR-конструкций на разных каркасах (например, CAR 2-го поколения, SIR, Ab-TCR, zSIR, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ и т.п.), содержащих вышеуказанные мутации, представлен SEQ ID NO: 7409-7753, 7892- 8374 и может использоваться для создания разнообразного иммунного ответа.

Создали Т-клетки для экспрессии следующих конструкций BCMA SAR, и с помощью анализа Matador показали, что они индуцируют цитотоксичность в клетках L363, экспрессирующих BCMA, и индуцируют продуцирование цитокинов (например, TNF α , IFN γ , IL-2 и т.п.) при совместном культивировании с клетками L363.

Затем SAR-Т-клетки тестировали на модели ксенотрансплантата L363 в мышцах

NSG. Для этого вводили внутривенно $0,5 \times 10^6$ клеток L363-Luc через хвостовую вену с последующей внутривенной инъекцией 2×10^6 Т-клеток, экспрессирующих SAR, через 3 дня. Мыши, которым вводили SAR-Т-клетки, демонстрировали разный уровень ингибирования опухоли и улучшение выживаемости. Мыши, получавшие SAR-Т с SEQ ID NO: 21852 и 21853, продемонстрировали лучший контроль заболевания и пролонгацию выживания по сравнению с мышами, которым вводили контрольные Т-клетки.

Биспецифичные и бипаратопные SAR-конструкции, нацеленные на BCMA и CD20, были сконструированы на основе SAR с SEQ ID NO: 21853. Эти конструкции представлены SEQ ID NO (DNA): 22151-22155 и SEQ ID NO (PRT): 22966-22970. Эти SAR-конструкции экспрессировали в клетках JNG и тестировали на предмет индукции GFP при совместном культивировании в течение ночи с панелью клеточных линий, экспрессирующих BCMA или CD20, или и то, и другое. Биспецифичные и бипаратопные конструкции с SEQ ID NO: 22151-22152 продемонстрировали индукцию GFP при совместном культивировании с экспрессирующими BCMA клетками L363 (BCMA+) и U266, но не продемонстрировали индукции GFP при совместном культивировании с клетками NALM6, которые не содержат BCMA, но экспрессируют низкий уровень CD20 (таблица С2). Напротив, биспецифичные SAR-конструкции с SEQ ID NO: 22153-22155 продемонстрировали индукцию GFP клетками L363, U266, NALM6 и RAJI, но показали незначительную неспецифическую индукцию GFP при совместном культивировании с клетками RS:411, в которых отсутствуют как экспрессия BCMA, так и CD20. Таким образом, Т-клетки, экспрессирующие SAR-конструкции с SEQ ID NO: 22153-22155, могут распознавать более одного антигена и надежно отвечать индукцией сигнального пути NFAT.

Т-клетки, экспрессирующие биспецифичные и мультиспецифичные SAR-конструкции, тестировали на предмет эффективности *in vivo* с применением панели клеточных линий, экспрессирующих различные антигены, с применением модели ксенотрансплантата у мышей NSG. Показано, что Т-клетки, экспрессирующие биспецифичные и мультиспецифичные SAR-конструкции, обладают *in vivo* активностью против разнообразной панели клеточных линий, которые экспрессируют один или несколько антигенов-мишеней для них. Также показано, что Т-клетки, экспрессирующие биспецифичные и мультиспецифичные SAR-конструкции, обладают активностью в отношении клеточных линий, в которых отрицательно регулируется или утрачена экспрессия одного или нескольких своих антигенов-мишеней, пока они продолжают экспрессировать по меньшей мере один из антигенов, на которые нацелен SAR.

Сравнение SAR Her2

Получали клетки JNG, экспрессирующие различные нацеленные на Her2 SAR-конструкции, клонированные в векторе pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 4). Клетки JNG инфицировали лентивирусными векторами, кодирующими различные SAR-конструкции, нацеленные на Her2, с каркасом двухцепочечных SIR. Фрагменты vL и vH этих конструкций были получены из герцептина или одного из его вариантов. В случае конструкций, коэкспрессирующих PAC, клетки также отбирали с применением пурамицина. Затем клетки тестировали на трансдукцию GFP после инкубации с клеточными линиями SKOV3 (Her2-высокий), MCF7 (Her2-средний), PC3 (Her2-низкий) и MDA-MB-231 (Her2-низкий), соответственно. Как показано в Таблице 51, различные конструкции Her2 SAR показали варьирующие уровни индукции GFP. SAR-конструкции с SEQ ID NO: 21895 и 21897, в которых vL-фрагмент huMab4D5 или его мутант присоединен к константной цепи TCRb или одному из его вариантов (KACIAH), продемонстрировали сильную индукцию GFP при совместном культивировании с клеточными линиями с высокой и низкой экспрессией Her2. Напротив, SAR-конструкции с SEQ ID NO: 21894, 21896, 21898 и 21899 показали умеренную активность в отношении клеточных линий с высокой экспрессией Her2, и активность от низкой до незначительной в отношении клеточных линий с низкой экспрессией Her2. Эти результаты показывают, что можно модифицировать чувствительность SAR, нацеленных на Her, путем включения различных мутаций во фрагменты vL и vH и их присоединения к различным константным цепям TCR.

SEQ ID NO примерных фрагментов vL, vH и scFv на основе гуманизированного антитела Her2 4D5 и его вариантов представлены в таблице 3. Эти фрагменты vL и vH использовали для создания разнообразной панели моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, нацеленных на Her2, чьи SEQ ID NO: представлены SEQ ID NO: 8858-8926 и 21683-21703. Дополнительные мутанты 4D5 известны в данной области и могут быть использованы в альтернативном воплощении изобретения. SEQ ID NO других фрагментов vL, vH, scFv, нацеленных на Her2, на основе антител Her2-USC-1516 и Her2 FRP5 также представлены в таблице 3. Эти фрагменты vL, vH и scFv использовали для создания разнообразной панели моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR, нацеленных на Her2, представленных в таблице 36 (SEQ ID NO: 8927-8995 и 8651-8719).

В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на Her2, который при экспрессии в клетках JNG вызывает менее 10% индукции GFP, когда клетки JNG, экспрессирующие SAR, совместно культивируют в течение 24 часов с MDA-MB-231. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на Her2, который при

экспрессии в клетках JNG вызывает менее 10% индукции GFP при совместном культивировании в течение 24 часов с Her2-отрицательной клеточной линией. В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на Her2, который при экспрессии в клетках JNG вызывает более 20% индукции GFP при совместном культивировании в течение 24 часов с клетками SKOV3.

Созданы Т-клетки, экспрессирующие различные SAR-конструкции, нацеленные на Her2, и они демонстрируют цитотоксичность *in vitro* в отношении клеток MCF7 и SKOV3 с применением анализа Matador. Также показано, что SAR-Т-клетки индуцируют продуцирование цитокинов (TNF α , IFN γ и IL2) при воздействии на клетки-мишени. SAR-Т-клетки также проявляют противоопухолевую активность *in vivo* при тестировании на модели ксенотрансплантата с использованием иммунодефицитных мышей NSG.

Таблица 51. SAR, нацеленные на Her2			
SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
21894	22709	CD8SP-Her2-huMab4D5-H91A-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-Her2-huMab4D5-D98W-vH-[hTCRb-S57C-opt1]	SKOV-3 (5.5+), MCF-7 (3.5+), PC-3 (+/-), MDA-MB-231 (-)
21895	22710	CD8SP-Her2-huMab4D5-H91A-vL-V5-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-IgHSP-Hercept-Hu4D5_vH-MYC-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (7+), MCF-7 (7+), PC-3 (8+), MDA-MB-231 (7+)
21896	22711	CD8SP-Her2-huMab4D5-D98W-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-Her2-huMab4D5-D98A-F100A-Y102V-vH-[hTCRb-S57C-opt1]	SKOV-3 (7+), MCF-7 (5+), PC-3 (+/-), MDA-MB-231 (-), SKOV-3+ Herceptin (+/-)
21897	22712	Hercept-Hu4D5_vL-V5-[hTCR β -KACIAH]-F-P2A-IgHSP-Her2-huMab4D5-D98A-F100A-Y102V-vH-MYC-[hTCRa-CSDVP]-F-F2A-PAC	SKOV-3 (4.5+), MCF-7 (4.5+), PC-3 (6+), MDA-MB-231 (5+)
21898	22713	CD8SP-Hercept-Hu4D5-vL-[hTCRa-T48C]-F-F2A-SP-Her2-huMab4D5-D98A-F100A-Y102V-vH-[hTCRb-S57C-opt1]	SKOV-3 (3.5+)

SAR PSMA

Получали клетки JNG, экспрессирующие различные нацеленные на PSMA SAR-конструкции, клонированные в векторе pCCLc-MNDU3-WPRE (SEQ ID NO: 4). Клетки тестировали на предмет связывания с PSMA-ECD-GGS-NLuc (SEQ ID NO: 11995), и клетки JNG, экспрессирующие все SAR-конструкции, показали связывание с PSMA-ECD-GGS-NLuc (SEQ ID NO: 11995). Клетки также показали связывание с протеином L с помощью проточной цитометрии. Клетки JNG, экспрессирующие SAR-конструкции, затем тестировали на индукцию экспрессии GFP при совместном культивировании в течение ночи с клетками LNCaP. Все конструкции показали надежную индукцию GFP.

Получали Т-клетки, экспрессирующие следующие SAR-конструкции, посредством генной трансдукции, опосредованной лентивирусами. Т-клетки показали экспрессию SAR-конструкций на клеточной поверхности, которую измеряли с помощью проточной цитометрии. Способность SAR-Т-клеток индуцировать цитотоксичность клеток-мишеней LNCaP-LucPPE была продемонстрирована с применением анализа Matador. Для этой цели клетки LNCaP стабильно трансдуцировали термостабильным вариантом люциферазы жука-щелкуна (LucPPE-146-1H2; SEQ ID NO: 17) с применением переноса генов, опосредованного лентивирусами. Т-клетки тестировали *in vivo* с применением модели ксенотрансплантата LNCaP-LucPPE на мышах NSG. Клетки LNCaP-LucPPE 1×10^6 в 100 мкл смеси Matrigel и культуральной среды (1:1, об./об.) имплантировали подкожно в правое бедро 5-недельным самцам мышей NSG ($n = 6$). Семнадцать дней спустя 3×10^6 Т-клеток PSMA-SAR вводили внутривенно через инъекцию в хвостовую вену. Рост опухоли измеряли с помощью биолюминесцентной визуализации *in vivo* (BLI) после инъекции D-люциферина. Т-клетки, экспрессирующие SAR с SEQ ID NO: 9694, 9763, 9832 и 9901, продемонстрировали эффективный контроль над опухолью, что было измерено с помощью биолюминесцентной визуализации *in vivo* и измерения объема опухоли с применением штангенциркуля. Это привело к улучшению выживаемости. В частности, животные, получавшие CAR-T 2-го поколения с SEQ ID NO: 9758, продемонстрировали минимальный контроль над опухолью, в то время как животные, которым вводили Т-клетки, которым вводили SAR с двухцепочечным SIR (например, SEQ ID NO: 9762, 9901 и 9970), показали статистически значимый и эффективный контроль опухоли. Эффективный контроль опухоли наблюдался также при использовании SAR-Т-конструкций, в которых модули [hTCRb-S57C] и [hTCRa-T48C] в конструкциях с SEQ ID NO: 9762, 9901 и 9970 были заменены на [hTCRb-KACIAH] и [hTCRa -CSDVP], соответственно. Кроме того, эффективный контроль наблюдался в SAR-Т-клетках, экспрессирующих конструкцию CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-KACIAH]-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-[hTCRa-CSDVP]- F-F2A-K13-opt (SEQ ID NO: 21485), которая коэкспрессировала модуль K13 (SEQ ID NO: 1317).

Примерно через 197 дней после инъекции SAR-Т-клеток у выживших мышей брали образцы крови. Присутствие циркулирующих Т-клеток человека подтверждали окрашиванием антителом против CD3 человека и проточной цитометрией. Экспрессию SAR на Т-клетках подтверждали окрашиванием APC-конъюгированным протеином L и проточной цитометрией. Выжившим животным повторно вводили подкожно свежие раковые клетки LNCaP, как и раньше. Мыши, получавшие SAR-Т-клетки, были способны отторгать клетки LNCaP при повторном заражении даже через 200 дней, что

свидетельствует о долговременном иммунитете. Кроме того, наблюдалось увеличение процентного содержания SAR-T-клеток, измеренное с помощью проточной цитометрии, у животных при повторном заражении клетками LNCaP. Напротив, мышей, которым не вводили SAR-T-клетки, использовали в качестве контроля, и у них наблюдался прогрессирующий рост опухоли.

Помимо своей экспрессии на раковых клетках, PSMA также экспрессируется на низком уровне на нормальных клетках. Поэтому необходимо разработать SAR, которые могут распознавать и реагировать на клетки-мишени с разным уровнем PSMA. Создали панель SAR на разных каркасах и с разными фрагментами vL и vH, которые стабильно экспрессируются в клетках JNG. Клетки JNG, экспрессирующие различные SAR-конструкции, тестировали против клеточных линий LNCaP (PSMA-высокий), KMH2 (PSMA-низкий) и Huh-7 (PSMA-низкий) в анализе совместного культивирования. Результаты показаны в таблице 52. SAR-конструкции с SEQ ID NO: 21882, 21884, 21886, 21887 и 21892 показали умеренную индукцию GFP при культивировании с клетками LNCaP, которые экспрессируют высокие уровни PSMA, но показали незначительную индукцию GFP с клетками KMH2 и Huh-7, которые демонстрируют низкие уровни PSMA. SAR-конструкции с SEQ ID NO: 21888-21891 проявляют слабую активность даже против клеток LNCaP. SAR-конструкция с SEQ ID NO: 21885 с более короткими цепями TCR γ (huTCRg-d7) и TCR δ (huTCRd-d2) показала высокую GFP-активность, управляемую NFAT, против клеток LNCaP, но также была активна против клеток KMH2 и Huh-7, которые экспрессируют низкие уровни PSMA. SAR-конструкция с SEQ ID NO: 21884 с цепью huTCRg-d12 показала более слабую активность по сравнению с SAR с SEQ ID NO: 21885. SAR-конструкция с SEQ ID NO: 21886 с делетированными константными цепями TCRa (hTCRa-d17) и TCRb (hTCRb-d17) продемонстрировала относительно высокую индукцию GFP при совместном культивировании с клетками LNCaP, но обладала незначительной активностью в отношении клеточных линий Huh-7 и KMH2. Таким образом, в зависимости от уровня экспрессии PSMA у онкологического пациента можно выбрать различные SAR-конструкции с разными каркасами, константными цепями и антигенсвязывающими доменами для максимальной эффективности и безопасности. Таким образом, SAR с SEQ ID NO: 21885 может обладать активностью в отношении опухолей с низким уровнем экспрессии PSMA, а также может обладать токсичностью против опухоли в отношении нормальных здоровых тканей. Напротив, SAR с SEQ ID NO: 21886 и 21892 может пропускать некоторые опухоли с низким уровнем экспрессии PSMA, но может обеспечивать лучший профиль безопасности. Кроме того, SAR-конструкции с более короткими константными цепями TCR не только сохраняют свою сигнальную

активность, но, кроме того, могут обладать более высокой сигнальной активностью. SAR-конструкции с более короткими константными цепями TCR также имеют преимущество меньшего размера, что, в свою очередь, приводит к более высокому титру вирусного вектора (например, лентивирусного вектора), кодирующего эти конструкции.

Хотя описанные выше эксперименты проводились с SAR с геном устойчивости к пуромицину (PAC), результаты также применимы к конструкциям, в которых отсутствует этот необязательный модуль. Наконец, фрагменты vL и vH, использованные при конструировании вышеуказанных конструкций, можно также использовать для создания дополнительных SAR-конструкций с различными каркасами и с дополнительными модулями связывания (например, AABD) для создания разнообразной панели моноспецифичных, биспецифичных, мультиспецифичных и универсальных SAR-конструкций. SEQ ID NO фрагментов vL, vH и scFv, нацеленных на PSMA, представлены в таблице 3. SEQ ID NO примерных моноспецифичных, биспецифичных и мультиспецифичных SAR-конструкций, нацеленных на PSMA отдельно или в комбинации с другими антигенами, представлены SEQ ID NO (DNA): 9686-10030 (таблица 36) и в SEQ ID NO (DNA): 21662-21682. Эти SAR-конструкции могут быть дополнительно протестированы с применением анализов, описанных в данном описании, и могут быть использованы для создания разнообразного иммунного ответа против раков, экспрессирующих PSMA.

В раскрытии предлагаются SAR на каркасе CAR 2-го поколения, SIR, cTCR, AbTCR, TFP, которые при экспрессии в иммунных клетках (например, Т-клетках или NK-клетках и т.п.) могут избирательно нацеливаться на раковые клетки с высокой экспрессией PSMA, сохраняя при этом нормальные клетки с низкой экспрессией PSMA. В описании также предложен удобный способ скрининга SAR с различной чувствительностью к опухолям с разным уровнем экспрессии PSMA (например, опухоли с высоким уровнем PSMA и низким уровнем PSMA). В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на PSMA, который при экспрессии в клетках JNG вызывает менее 10% индукции GFP, когда клетки JNG, экспрессирующие SAR, совместно культивируют в течение 24 часов с клетками Huh-7. В другом воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на PSMA, который при экспрессии в клетках JNG вызывает менее 10% индукции GFP при совместном культивировании в течение 24 часов с PSMA-отрицательной клеточной линией (например, клеточной линией, в которой обе аллели PSMA нокаутируются с помощью CRISPR/Cas9). В одном воплощении в раскрытии предлагается SAR, нацеленный на PSMA, который при экспрессии в клетках JNG вызывает более чем 20% индукцию GFP при совместном культивировании в течение

24 часов с клетками LNCaP.

Таблица 52. Создание разнообразной панели SAR против PSMA			
SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	SAR Название конструкции	АНАЛИЗ NFAT-GFP
21882	22697	CD8SP-hu-PSMA-2-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-3-J591-Y27F-E31D-vH-[hTCR α -T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (3+), PC-3 (-), KMH2 (-), Huh-7 (-)
21883	22698	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-3-J591-Y27F-E31D-vH-[hTCR α -T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (6+), PC-3 (+/-), KMH2 (-), Huh-7 (-)
21884	22699	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-huTCRg-d12-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	LNCaP (2+), Huh-7 (-), KMH2 (-)
21885	22700	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-huTCRg-d7-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	LNCaP (6+), Huh-7 (2+), KMH2 (2+)
21886	22701	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-hu-TCRb-d17-F-P2A-IgHSP-hu-PSMA-J591-vH-hu-TCRa-d17-F-F2A-PAC	LNCaP (4+), Huh-7 (-), KMH2 (-)
21887	22702	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-hu-TCRb-S57C-d14-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-hu-TCRa-d17-F-F2A-PAC	LNCaP (3+), Huh-7 (-), KMH2 (-)
21888	22703	CD8SP-hu-PSMA-3-J591-Y91A-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-3-J591-Y27F-E31D-vH-[hTCR α -T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (-), Huh-7 (-), KMH2 (-)
21889	22704	CD8SP-RitX2-G4S-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-3-J591-Y27F-E31D-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (+/-)
21890	22705	CD8SP-RitX2-G4S-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-PSMA-3-J591-Y27F-E31D-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (-)
21891	22706	CD8SP-RitxGax2-RitX2-G4S-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (+/-)
21892	22707	CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-[hTCRa-T48C-opt]-F-F2A-PAC	LNCaP (3+), Huh-7 (-), KMH2 (-)

Сравнение SIR с различными делеционными мутантами цепей TCR

Клетки JNG инфицировали лентивирусными векторами, кодирующими следующие делеционные конструкции, нацеленные на CD19 и основанные на фрагментах vL и vH hu-mROO5-1, которые связаны с мутантами дикого типа и различными делеционными мутантами цепей TCR α и TCR β , а также цепей TCR γ и TCR δ . Клетки инкубировали с

клетками RAJI и измеряли индукцию экспрессии GFP с помощью проточной цитометрии (таблица 53). Однако конструкции с делеционными мутантами цепей TCR α , β , γ и δ показали значительную индукцию GFP при совместном культивировании с клетками RAJI. В частности, конструкция с SEQ ID NO: 22641 с делецией как TCR α , так и TCR β показала значительную индукцию GFP. Аналогично, конструкции с делецией цепей TCR γ и TCR δ с SEQ ID NO: 22651 и 22652 показали значительную остаточную активность. Эти делеционные мутанты можно использовать для создания SAR с различными уровнями силы и активности. Эти мутанты также могут приводить к более высокому титру вирусных векторов.

Таблица 53. Делеционный мутагенез константных цепей TCR			
SEQ ID NO (DNA)	SEQ ID NO (PRT)	Название конструкции	АНАЛИЗ Jurkat-NFAT
21813	22628	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d6-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (5+)
21814	22629	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d2-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (6+)
21815	22630	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (4+)
21816	22631	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d4-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (6+)
21817	22632	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d9-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (5+)
21818	22633	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d14-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (4+)
21819	22634	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-S57C-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-T48C-opt-d17-F-F2A-PAC	Raji (4+)
21820	22635	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-S57C-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d6-F-F2A-PAC	Raji (2.5+)
21821	22636	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-S57C-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d13-T48C-optF-F2A-PAC	Raji (4+)
21822	22637	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d9-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d10-F-F2A-PAC	Raji (6.5+)
21823	22638	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d2-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d6-F-F2A-PAC	Raji (6.5+)
21824	22639	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d4-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d6-F-F2A-PAC	Raji (6+)
21825	22640	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d6-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d6-F-F2A-PAC	Raji (6+)

21826	22641	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d17-F-F2A-PAC	Raji (6.5+)
21827	22642	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d26-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (+)
21828	22643	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d32-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (2+)
21829	22644	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d37-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (+/-)
21830	22645	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d46-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (2+)
21831	22646	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d17-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d52-F-F2A-PAC	Raji (2+)
21832	22647	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d41-S57C-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d32-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (+)
21833	22648	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d50-S57C-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d37-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (-)
21834	22649	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d55-S57C-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d46-T48C-opt-F-F2A-PAC	Raji (-)
21835	22650	CD19-hu-mROO5-1-vL-hTCRb-d63-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-hTCRa-d52-F-F2A-PAC	Raji (-)
21836	22651	CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d5-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (6+)
21837	22652	CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d7-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (5+)
21838	22653	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d12-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d2-F-F2A-PAC	Raji (+)
21839	22654	CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d7-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d8-F-F2A-PAC	Raji (+/-)
21840	22655	CD8SP-CD19-hu-mROO5-1-vL-huTCRg-d12-F-P2A-SP-CD19-hu-mROO5-1-vH-huTCRd-d13-F-F2A-PAC	Raji (-)

Использование универсальных SAR-T-клеток, экспрессирующих CD16 в качестве антигенсвязывающего домена. Клетки Daudi, экспрессирующие люциферазу, вводили внутрибрюшинно (внутрибрюшинно; $0,3 \times 10^6$ клеток/мышь) мышам NSG (Jackson Laboratory). Некоторые мыши получали ритуксимаб (150 мг) внутрибрюшинно. Т-клетки человека (1×10^7), экспрессирующие CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD16-V158-v2-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 4725) SAR вводили через четыре дня после инокуляции Daudi. Контрольные мыши получали среду для культивирования тканей вместо ритуксимаба или Т-клеток. Инъекцию ритуксимаба повторяли еженедельно в течение 4 недель без дальнейших инъекций Т-лимфоцитов. Всем мышам внутрибрюшинно вводили 1000–2000 МЕ IL2 два раза в неделю в течение 4 недель. У мышей, получавших ритуксимаб плюс SAR-T-клетки, наблюдалось снижение

роста опухоли.

Применение SAR, содержащих домен RZiP

Получали Т-клетки, экспрессирующие примерный SAR, содержащий RZIP CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-RZIP-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 4345), которые вводили пациенту с В-клеточной лимфомой в дозе 5 миллионов клеток/кг. Пациенту также вводили очищенные CD8SP-CD20-2F2-vL-Gly-Ser-Линкер-CD20-2F2-vH-G4S-EZIP (SEQ ID NO: 12033) и CD8SP-CD22-5-(vH-vL)-G4S-EZIP (SEQ ID NO:12146), нацеленный на CD20 и CD22, путем внутривенной непрерывной инфузии со скоростью 1-100 мкг/день. Дозу начинали с 1 мкг/день, а затем корректировали в зависимости от переносимости и развития симптомов CRS.

Применение SAR, содержащих домен E4

Получали Т-клетки, экспрессирующие примерный SAR, содержащий E4 CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-E4-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 4472), которые вводили пациенту с В-клеточной лимфомой в дозе 5 миллионов клеток/кг. Пациенту также вводили очищенный CD8SP-CD20-2F2-vL-Gly-Ser-Линкер-CD20-2F2-vH-G4S-K4 (SEQ ID NO: 12291) и CD8SP-CD22-h10F4v2-vL-Gly-Ser-Линкер-CD22-h10F4v2-vH-G4S-K4 (SEQ ID NO:12293), нацеленный на CD20 и CD22, посредством внутривенной непрерывной инфузии со скоростью 1-100 мкг/день. Дозу начинали с 1 мкг/день, а затем корректировали в зависимости от переносимости и развития симптомов CRS.

Применение отбора *in vitro* и *in vivo* для отбора SAR с желаемыми свойствами. Пул SAR, нацеленных на CD19, перечисленных в таблице 35, нацелен на локус TRAC в Т-клетках с применением «руководящей» РНК TRAC, по существу, как описано Eyuem J et al (Nature, 543(7643):113-117, 2017). Вектор-мишень также несет штрих-коды ДНК, расположенные ниже стоп-кодона SAR-вставок. Примерной конструкцией для нацеливания SAR на локус TRAC является TRAC-5-SA-F2A-CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-STOP-pA-Del-Exon1-TRAC-3 (SEQ ID NO: 23). Другие SAR-конструкции, основанные на каркасе Ab-TCR, cTCR и TFP, могут быть сконструированы для нацеливания на локус TRAC, как описано в документе PCT/US2018/053247, который полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Нацеленная на TRAC конструкция, кодирующая SAR на основе каркасов TFP, также коэкспрессирует константные цепи TCR α или его функциональный вариант, как описано в документе PCT/US2018/053247, который полностью включен в настоящую заявку ссылкой. Т-клетки могут быть получены из периферической крови. В альтернативном

воплощении Т-клетки получают из одного клона iPSC или гемопоэтических стволовых клеток с применением методов, известных в данной области. Т-клетки, экспрессирующие пул SAR, совместно культивируют с клетками RAJI *in vitro* в течение от 1 до 21 дня. Аликвоты пулов SAR-Т-клеток собирали перед культивированием с клетками-мишенями и в разные дни после совместного культивирования. Образцы подвергали секвенированию следующего поколения для определения относительной частоты различных SAR после экспонирования клеткам-мишеням. Биоинформатический анализ используется для определения SAR, которые связаны с лучшим пролиферативным ответом после совместного культивирования с клетками-мишенями. По сути, аналогичный подход используется для определения SAR, которые придают Т-клеткам более высокий пролиферативный потенциал *in vivo* и/или сохраняются в течение длительного времени *in vivo*, и/или присутствуют с более высокой частотой при нормализации их частоты в исходной популяции Т-клеток у выживших животных по сравнению с животными, которые погибли из-за заражения опухолью. В альтернативном воплощении изобретения по существу аналогичный подход используется на клинических образцах человека для идентификации SAR, которые связаны с различными свойствами и/или исходами, включая, без ограничения указанным, лучшую долгосрочную выживаемость, более низкую частоту синдрома высвобождения цитокинов, более низкую нейротоксичность и/или более длительную персистенцию. Такие SAR могут быть впоследствии использованы по отдельности или в различных комбинациях для разработки различных субпулов SAR, содержащих SAR, направленные на одни и те же или разные антигенсвязывающие домены, с различными свойствами для лечения различных болезненных состояний и разных пациентов. В других случаях SAR-Т-клетки подвергают воздействию линии клеток-мишеней, а затем сортируют по различным наборам на основе уровня внутриклеточного IFN γ , определяемого с помощью проточной цитометрии. Частота различных SAR в популяции с низким и высоким IFN γ определяется секвенированием следующего поколения и нормализуется к их частоте в контрольной популяции SAR-Т-клеток, т.е. SAR-Т-клеток, которые не экспонировались линии клеток-мишеней или которые экспонировались клеточной линии, которая не экспрессирует мишень SAR. На основании этого анализа можно определить SAR, связанные с различными уровнями продуцирования IFN γ . Аналогичный подход используется для скрининга и отбора SAR с любыми или с комбинацией желаемых свойств или атрибутов, включая, без ограничения указанным, более низкое продуцирование TNF α , более низкую экспрессию маркеров истощения, более низкую экспрессию маркеров терминальной дифференцировки и/или более высокую экспрессию маркеров цитотоксичности.

Применение аутологичных SAR-T-клеток для адоптивной клеточной терапии. SAR-T-клетки по настоящему изобретению можно использовать для адоптивной клеточной терапии. Например, пациенты с рецидивирующим острым лимфоцитарным лейкозом (ОЛЛ), хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) или В-клеточными лимфомами промежуточной степени высокого риска могут получать иммунотерапию с адоптивно перенесенными аутологичными SAR-T-клетками, нацеленными на CD19. Продукт лейкофереза, полученный от каждого пациента, подвергается отбору CD3-положительных Т-лимфоцитов с применением системы CliniMACS Prodigy® от Miltenyi Biotec и в соответствии с рекомендациями производителя. Т-лимфоциты необязательно обогащают Pgp-позитивными Т-клетками с применением проточной сортировки после окрашивания антителами Pgp, MACS после окрашивания антителами Pgp или фотодинамической селекции после экспонирования TH9402 plus light. Клетки трансдуцируют CD8SP-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 4091) клинического уровня, а затем происходит отбор и размножение SAR-T-клеток во флаконе GRex в условиях гипоксии. После того, как полученные клеточные продукты прошли контроль качества (включая тесты на стерильность и опухолеспецифическую цитотоксичность), их подвергали криоконсервации. Между тем, после лейкофереза участники исследования начинают лимфодеплетивную химиотерапию (30 мг/м²/день флударабина плюс 500 мг/м²/день циклофосфида x 3 дня). Через день после завершения режима лимфодеплетации ранее сохраненный продукт SAR-T-клеток транспортировали, размораживали и инфузировали лежачим пациентам. Участнику исследования внутривенно вводят SAR-трансдуцированные лимфоциты с последующим введением высоких доз (720 000 МЕ/кг) IL-2 (Aldesleukin; Prometheus, Сан-Диего, Калифорния) каждые 8 часов до достижения толерантности. Доза продукта SAR-T варьирует от 1 x 10⁴ клеток SAR+ve CD3/кг до 5 x 10⁹ клеток SAR+ve CD3/кг в соответствии с протоколом исследования. Продукт SAR-T можно вводить в виде одной инфузии или разделенных инфузий. Участники исследования могут быть предварительно пролечены по меньшей мере за 30 минут до инфузии Т-клеток 15 мг/кг ацетаминофена перорально (макс. 650 мг) и 0,5-1 мг/кг дифенгидрамина в/в (макс. доза 50 мг). Участник исследования может дополнительно получать ежедневные инъекции человеческого IL-2. Последующие клинические и лабораторные корреляционные исследования могут быть выполнены по усмотрению врача и могут включать количественные исследования ОТ-ПЦР на наличие CD19-экспрессирующих клеток ОЛЛ/лимфомы и/или адоптивно перенесенных Т-клеток; сканы FDG-PET и/или КТ; исследование костного мозга для специфической

патологической оценки заболевания; биопсию лимфатических узлов; и/или долгосрочное наблюдение в соответствии с рекомендациями, изложенными консультативным комитетом FDA по модификаторам биологического ответа, которые применяются к исследованиям по переносу генов. По существу, аналогичный подход можно использовать для лечения других заболеваний с применением аутологичных иммунных клеток (например, Т-клеток), которые были сконструированы для экспрессии SAR раскрытия, где SAR нацелен на антиген или антигены, экспрессируемые на клетках, вызывающих заболевание, или клетках, ассоциированных с заболеванием.

Использование аутологичных SAR-Т-клеток, нацеленных на несколько антигенов, для адоптивной клеточной терапии. Пациенты с множеством различных заболеваний, включая инфекционные заболевания (например, HIV1, EBV, CMV, HTLV1 и т.п.), дегенеративные заболевания (например, болезнь Альцгеймера), аутоиммунные заболевания (например, вульгарная пузырчатка), аллергические заболевания (например, хроническая идиопатическая крапивница) и многочисленные онкологические заболевания, включены в одобренное IRB клиническое испытание I фазы иммунотерапии с адоптивно перенесенными аутологичными клетками SAR-Т, нацеленными на различные антигены, вызывающие заболевание или ассоциированные с заболеванием. SAR для различных заболеваний выбирают на основе известной экспрессии их антигена-мишени в клетках, вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием. Там, где это возможно, экспрессия SAR-мишени на клетках, вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием, подтверждается путем связывания с гибридным белком ABD-GGS-NLuc, в котором антигенсвязывающий домен SAR объединен с несекреторной формой белка NLuc через гибкий линкер. Альтернативно, иммуногистохимия или проточная цитометрия с применением коммерчески доступных антител используются для подтверждения экспрессии SAR-мишени на клетках, вызывающих заболевание или ассоциированных с заболеванием. Т-клетки собирают у субъекта с помощью лейкофереза, трансдуцируют соответствующим лентивирусным вектором, кодирующим SAR, и размножают *ex vivo* с применением гранул CD3/CD28 во флаконе GRex с Биринпантом. После того, как полученные клеточные продукты прошли контроль качества (включая тесты на стерильность и опухолеспецифическую цитотоксичность), их подвергали криоконсервации. Между тем, участники исследования начинали с лимфодеплетивной химиотерапии (30 мг/м²/день флударабин плюс 500 мг/м²/день циклофосфида x 3 дня). Через день после завершения курса лимфодренажа участнику исследования внутривенно вводили трансдуцированные лимфоциты с последующим введением высоких доз (720 000 МЕ/кг) IL2 (Aldesleukin; Prometheus, Сан-Диего, Калифорния) каждые 8 часов до

достижения толерантности. Ранее сохраненный продукт SAR-T-клеток транспортировали, размораживали и инфузировали лежачим пациентам. Доза продукта SAR-T варьирует от 1×10^4 клеток SAR+ve CD3/кг до 5×10^9 клеток SAR+ve CD3/кг в соответствии с протоколом исследования. Продукт SAR-T можно вводить в виде одной инфузии или разделенных инфузий. Участники исследования могут быть предварительно пролечены по меньшей мере за 30 минут до инфузии T-клеток 15 мг/кг ацетаминофена перорально (макс. 650 мг) и 0,5-1 мг/кг дифенгидрамина в/в (макс. доза 50 мг). Участник исследования может дополнительно получать ежедневные инъекции человеческого IL-2. Последующие клинические и лабораторные коррелятивные исследования могут быть выполнены по усмотрению врача.

Применение аллогенных SAR-T-клеток для адоптивной клеточной терапии. Пациенты с рецидивом острого лимфоцитарного лейкоза или В-клеточных лимфом промежуточной степени высокого риска, перенесшие аллогенную трансплантацию костного мозга, могут получать иммунотерапию адоптивно перенесенными аллогенными SAR-T-клетками. Продукт лейкофереза, полученный от донора (того же донора, который использовался для аллогенной трансплантации), подвергается отбору CD3-положительных T-лимфоцитов с применением системы CliniMACS Prodigy® от Miltenyi Biotec и в соответствии с рекомендациями производителя. Экспрессию TRAC и $\beta 2M$ устраняли путем нокаута, опосредованного CRISP9, с применением способов, известных в данной области, и отбирали T-клетки, лишённые экспрессии на клеточной поверхности комплекса TCR/CD3 и HLA. Клетки активировали с применением искусственных антигенпрезентирующих клеток на основе магнитных гранул CD3 и CD28 и трансдуцируют вирусом CD20-SIR клинической степени чистоты (например, CD8SP-MC7G5-Vb-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-MC7G5-Va-[hTCRa-T48C](SEQ ID NO: 3503). Клетки размножали в течение 9-12 дней в закрытой системе. После того, как полученные клеточные продукты прошли контроль качества (включая тесты на стерильность и опухолеспецифическую цитотоксичность), их подвергали криоконсервации. Между тем, участники исследования начинали с лимфодеплетивной химиотерапии ($30 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ флударабин плюс $500 \text{ мг/м}^2/\text{день}$ циклофосфида $\times 3$ дня). Через день после завершения курса лимфодренажа участнику исследования внутривенно вводили трансдуцированные лимфоциты с последующим введением высоких доз ($720\,000 \text{ МЕ/кг}$) IL2 (Aldesleukin; Prometheus, Сан-Диего, Калифорния) каждые 8 часов до достижения толерантности. Продукт SAR-T-клеток транспортировали, размораживали и инфузировали лежачим пациентам. Доза продукта SAR-T может варьировать от 1×10^4 клеток SAR+ve CD3/кг до 5×10^9 клеток SAR+ve

CD3/кг в соответствии с протоколом исследования. Продукт SAR можно вводить в виде одной инфузии или разделенных инфузий. Участники исследования могут быть предварительно пролечены по меньшей мере за 30 минут до инфузии SAR-T-клеток 15 мг/кг ацетаминофена перорально. (макс. 650 мг) и 0,5-1 мг/кг дифенгидрамина в/в (макс. доза 50 мг). Последующие клинические и лабораторные корреляционные исследования могут быть выполнены по усмотрению врача и могут включать количественные исследования ОТ-ПЦР на наличие CD20-экспрессирующих клеток ОЛЛ/лимфомы и/или адоптивно перенесенных Т-клеток; сканы FDG-PET и/или КТ; исследование костного мозга для специфической патологической оценки заболевания; биопсию лимфатических узлов; и/или долгосрочное наблюдение в соответствии с рекомендациями, изложенными консультативным комитетом FDA по модификаторам биологического ответа, которые применяются к исследованиям по переносу генов. Применение иммуносупрессивных лекарственных средств также остается на усмотрение врача. По существу аналогичный подход можно использовать для лечения других заболеваний с применением аллогенных иммунных клеток (например, Т-клеток), экспрессирующих SAR раскрытия, где SAR нацелен на антиген или антигены, экспрессируемые на клетках, вызывающих заболевание, или клетках, ассоциированных с заболеванием. По существу аналогичный протокол используется для тестирования других SAR-конструкций, перечисленных в таблицах 25-36.

Инфузия SAR-T-клеток в печеночную артерию. В дополнение к внутривенной инфузии SAR-T-клетки можно вводить внутриартериально, чтобы обеспечить высокую концентрацию SAR-T-клеток в локальной области или органе, пораженном заболеванием.

Внутрибрюшинное введение SAR-T-клеток. SAR-T-клетки также можно вводить внутрибрюшинно, по существу, как описано у Konegu M et al (Journal of Translational Medicine; 2015; 13:102).

Применение SAR-T-клеток для внутриопухолевой инъекции. SAR-T-клетки также можно вводить внутриопухолево, по существу, как описано в Brown CE, et al, Clin Cancer Res. 2015 September 15; 21(18): 4062–4072.

Применение SAR-T-клеток для ex vivo очистки костного мозга или подготовки стволовых клеток периферической крови перед трансплантацией. SAR T-клетки можно использовать для очистки препарата костного мозга или стволовых клеток периферической крови от раковых клеток перед трансплантацией стволовых клеток.

Применение SAR, нацеленного на PSMA, для лечения пациента с раком предстательной железы.

Пациенту с раком предстательной железы вводили Мозибил для мобилизации

лимфоцитов, после чего проводили аферез. Т-клетки очищали и использовали для изготовления продукта SAR-T-клеток во флаконе GRex после трансдукции лентивирусным вектором, экспрессирующим SAR-конструкцию CD8SP-hu-PSMA-J591-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-hu-PSMA-J591-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 9763). Субъект получал лимфодеплетирующую химиотерапию с последующей инфузией продукта SAR-T-клеток в дозе 5 миллионов SAR-T-клеток/кг.

Применение SAR, нацеленного на BCMA, для лечения пациента с миеломой.

Пациенту с миеломой проводили аферез. Т-клетки очищали и использовали для производства продукта SAR-T-клеток во флаконе GRex в условиях гипоксии после трансдукции лентивирусным вектором, экспрессирующим SAR-конструкцию CD8SP-BCMA-hu-USC82-S29G-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-BCMA-hu-USC73-G32S-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO: 8314). Субъект получал лимфодеплетирующую химиотерапию с последующей инфузией продукта SAR-T-клеток в дозе 5 миллионов SAR-T-клеток/кг. По существу, аналогичная процедура используется для введения других продуктов SAR-T-клеток, нацеленных на BCMA (например, SEQ ID NO: 7415-7418, 7427).

Применение аллогенного клеточного продукта SAR-T

Аллогенный продукт SAR-T создавали путем нацеливания SAR-конструкции TRAC-5-SA-F2A-CD8SP-CD19-vHH-048-G4Sx3-R1-hu-mROO5-1-vL-[hTCRb-S57C]-F-P2A-IgSP-Apa-CD20-vHH-2HCD25-G4Sx3v2-hu-mROO5-1-vH-[hTCRa-T48C]-STOP-pA-Del-Exon1-TRAC-3 (SEQ ID NO: 23) на locus TRAC с применением методов, известных в данной области. Экспрессию β 2M также устраняли с помощью Cas9-опосредованного разрушения гена с применением методов, известных в данной области. Аллогенный продукт вводили пациенту с В-клеточным ОЛЛ после лимфодеплетирующей химиотерапии.

Применение SAR, нацеленного на MSLN, для лечения пациентки с раком яичников

Пациентке с раком яичников проводили аферез. Т-клетки очищали и использовали для производства продукта SAR-T-клеток во флаконе GRex в условиях гипоксии после трансдукции лентивирусным вектором, экспрессирующим SAR-конструкцию CD8SP-MSLN-hu22A10-vL-Y96W-[hTCRb-S57C]-F-P2A-SP-MSLN-hu22A10-vH-[hTCRa-T48C] (SEQ ID NO:10660). Субъект получал лимфодеплетирующую химиотерапию с последующей инфузией продукта SAR-T-клеток в дозе 5 миллионов SAR-T-клеток/кг. По существу, аналогичная процедура используется для введения других продуктов SAR-T-клеток, нацеленных на MSLN (SEQ ID NO: 10591, 10453, 10384-85 и т.п.).

Т-клетки, экспрессирующие ROR1 SAR, индуцируют цитотоксичность в

ROR1-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с применением магнитных гранул CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими SAR-конструкции (SEQ ID NO: 19065-19271), нацеленные на ROR1. SAR-Т-клетки размножали *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки A549, стабильно экспрессирующие GLuc, культивировали совместно с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е:Т 10:1 в течение 4 часов. Опосредованную SAR-Т-клетками индукцию лизиса клеток-мишеней анализировали с применением анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность SAR *in vivo* продемонстрировали с применением модели ксенотрансплантата в мышцах NSG.

Т-клетки, экспрессирующие CD229 SAR, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих CD229. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с применением магнитных шариков CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими SAR-конструкции (SEQ ID NO: 19883-20091), нацеленные на CD229. SAR-Т-клетки размножали *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки-мишени RAJI, стабильно экспрессирующие GLuc, культивировали совместно с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, при соотношении Е:Т 10:1 в течение 4 часов. Опосредованную SAR-Т-клетками индукцию лизиса клеток-мишеней анализировали с применением анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность SAR *in vivo* продемонстрировали с применением модели ксенотрансплантата в мышцах NSG.

Т-клетки, экспрессирующие Toso SAR, индуцировали цитотоксичность в Toso-экспрессирующих клетках. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с применением магнитных гранул CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими SAR-конструкции (SEQ ID NO: 19686-19720), нацеленные на Toso. SAR-Т-клетки размножали *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки-мишени, стабильно экспрессирующие GLuc, культивировали совместно с Т-клетками, экспрессирующими различные CAR, в соотношении Е:Т 10:1 в течение 4 часов. Опосредованную SAR-Т-клетками индукцию лизиса клеток-мишеней анализировали с применением анализа Matador путем измерения активности GLuc. Активность SAR *in vivo* продемонстрировали с применением модели ксенотрансплантата в мышцах NSG.

Т-клетки, экспрессирующие SAR SARS-CoV2, индуцируют цитотоксичность в клетках, экспрессирующих Toso. Т-клетки периферической крови человека, выделенные с помощью магнитных гранул CD3, инфицировали лентивирусами, экспрессирующими SAR-конструкции, нацеленные на RBD SARS-Cov2. SAR-Т-клетки размножали *in vitro* в течение 10-14 дней. Клетки K562, стабильно экспрессирующие GLuc и связанную с мембраной форму RBD, культивировали совместно с Т-клетками, экспрессирующими

различные CAR, при соотношении Е:Т 10:1 в течение 4 часов. Опосредованную SAR-Т-клетками индукцию лизиса клеток-мишеней анализировали с применением анализа Matador путем измерения активности GLuc.

По существу аналогичная процедура используется для демонстрации активности *in vitro* и *in vivo* других SAR раскрытия, нацеленных на другие антигены.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид синтетического антигенного рецептора (SAR), причем по меньшей мере один полипептид SAR содержит:

a) первый модуль, содержащий один или несколько автономных антигенсвязывающих доменов (AABD) или их фрагментов, выбранных из группы:

i) одиночного домена vH (SVH) или его фрагмента;

ii) одиночного домена vL (SVL) или его фрагмента;

iii) домена vHH или его фрагмента;

iv) однодоменного антитела или его фрагмента;

v) одиночного варибельного домена TCR (svd-TCR) или его фрагмента;

vi) неиммуноглобулинового антигенсвязывающего остова, выбранного из дарпина, аффибоди, аффилинов, аднектина, аффитина, ободи, репободи, финомера, альфатела, авимера, атримера, центирина, пронекта, антикалинов, домена Кунитца, белка с повторами Armadillo и домена D или фрагмента любого из вышеперечисленных;

vii) лиганд-связывающего домена рецептора или его фрагмента;

viii) рецептор-связывающего домена лиганда;

ix) аутоантигена или его фрагмента;

x) домена связывания адаптера или его фрагмента; и

xi) Fc-связывающего домена или его фрагмента;

b) второй модуль, содержащий vL (VL), vH (VH), Va/V α , Vb1 (V β 1), Vb2 (V β 2), Vg (V γ), Vd (V δ), scFv, scTCR, линкерный домен Ig или их комбинацию;

c) необязательный третий модуль, содержащий внеклеточный домен, соединительный пептид или шарнирный домен;

d) четвертый модуль, содержащий трансмембранный домен; и

e) необязательный пятый модуль, содержащий один или несколько внутриклеточных сигнальных доменов;

где первый, второй, необязательный третий, четвертый и необязательный пятый модули функционально связаны через один или несколько необязательных линкеров.

2. Рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий полипептид SAR по п. 1, где один или несколько AABD присоединены через необязательный линкер к N-концу или вблизи N-конца

1) первой полипептидной цепи, содержащей vH, Va, Vg или фрагмент линкерного

домена Ig, функционально связанной через необязательный линкер с первым фрагментом константной цепи Т-клеточного рецептора, содержащим первый соединительный пептид, функционально связанный с первым трансмембранным доменом первой субъединицы TCR; и

2) второй полипептидной цепи, содержащей vL, Vb, Vd или линкерный домен Ig, функционально связанной через необязательный линкер со вторым фрагментом константной цепи Т-клеточного рецептора, содержащим второй соединительный пептид, функционально связанный со вторым трансмембранным доменом второй субъединицы TCR;

при этом первый фрагмент константной цепи TCR и второй фрагмент константной цепи TCR образуют модуль Т-клеточного рецептора (TCRM), который способен рекрутировать по меньшей мере один связанный с TCR сигнальный модуль при экспрессии в Т-клетке.

3. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 2, отличающийся тем, что кодируемые vH, Va или Vg первого антигенсвязывающего домена и vL, Vb или Vd второго антигенсвязывающего домена образуют антигенсвязывающий модуль связывания, который специфически связывается с антигеном-мишенью.

4. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1 или 2, отличающийся тем, что AABD, vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd и/или линкерный домен Ig является полностью человеческим, гуманизированным, химерным или не человеческим доменом.

5. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1 или 2, отличающийся тем, что кодируемый линкерный домен Ig содержит полипептид с SEQ ID NO: 11832-11865 или его фрагмент или вариант, последовательность которого гомологична по меньшей мере на 70% последовательности полипептида, имеющего последовательность SEQ ID NO: 11832-11865.

6. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1 или 2, отличающийся тем, что кодируемый необязательный линкерный домен содержит полипептид с SEQ ID NO: 11832-11865, 11714-11730 или его фрагмент или вариант, по меньшей мере с 70% гомологии последовательности с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 11832-11865, 11714-11730 или домен длиной от 25 до 500 аминокислот.

7. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по

меньшей мере один полипептид SAR по п. 1, содержащий частичные или полные внеклеточные, трансмембранные и внутриклеточные домены полипептида, способные рекрутироваться в модуль T-клеточного рецептора (TCRM).

8. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1, содержащий внеклеточный, трансмембранный и внутриклеточный домены полипептида, выбранного из группы CD3 δ , CD3 ϵ , CD3 γ и CD3 ζ , или его фрагмент по меньшей мере с 70% гомологии последовательности с полипептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 11903-11906.

9. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 2, отличающийся тем, что кодируемый фрагмент константной цепи T-клеточного рецептора содержит полипептид или его фрагмент, имеющий по меньшей мере 70% гомологии последовательности с полипептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 11732-11830.

10. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один SAR по п. 2, отличающийся тем, что кодируемая константная цепь T-клеточного рецептора содержит соединительный пептид или его фрагмент, имеющий по меньшей мере 70% гомологии последовательности с соединительным пептидом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 11867-11875.

11. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по пп. 1 или 2, содержащий трансмембранный домен или его фрагмент, имеющий по меньшей мере 70% гомологии последовательности с трансмембранным доменом, имеющим последовательность любой из SEQ ID NO: 11877-11881 или 23332-23334.

12. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1, отличающийся тем, что внутриклеточный домен содержит цитозольный домен или его фрагмент, последовательность которого по меньшей мере на 70% гомологична полипептиду, имеющему последовательность любой из SEQ ID NO: 11883-11886, 11785 или 23335-23337.

13. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1, который имеет каркас CAR первого поколения, CAR второго поколения, CAR третьего поколения, одноцепочечный SIR, полуторацепочечный SIR, двухцепочечный SIR, zSIR, одноцепочечный cTCR, полуторацепочечный cTCR, двухцепочечный cTCR, Ab-TCR, AABD-TCR, TFP ϵ , TFP γ , TFP δ , TFP $\alpha\beta$, TFP $\gamma\delta$, a Tri-TAC, одноцепочечный TCR, двухцепочечный TCR или HLA-

независимый TCR.

14. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1 или 2, отличающийся тем, что SAR может связываться с:

- i) по меньшей мере с одним антигеном; и/или
- ii) по меньшей мере с одним эпитопом одного или нескольких антигенов.

15. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1, где кодируемые два или более AABD связываются с:

- i) по меньшей мере с одним антигеном; и/или
- ii) по меньшей мере с одним эпитопом одного или нескольких антигенов.

16. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1 или 2, отличающийся тем, что кодируемый им один или несколько антигенсвязывающих доменов связываются по меньшей мере с одним антигеном, выбранным из группы CD5; CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS1 (также называемого CD2 подгруппы 1, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); лектиноподобной молекулы-1 С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRviii); ганглиозида G2 (GD2); ганглиозида GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); В-клеточного антигена созревания, представителя семейства рецепторов TNF (BCMA); антигена Tn (Tn Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr)); простатспецифичного мембранного антигена (PSMA); орфанного рецептора 1, подобного рецепторной тирозинкиназы (ROR1); Fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3); опухолиассоциированного гликопротеина 72 (TAG72); CD38; CD44v6; гликозилированного эпитопа CD43, экспрессируемого при остром лейкозе или лимфоме, но не на гемопоэтических предшественниках, гликозилированного эпитопа CD43, не экспрессируемого при гемобластозах, карциноэмбрионального антигена (CEA); молекулы адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); субъединицы альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелина; рецептора интерлейкина 11 альфа (IL-11Ra); антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновой протеазы 21 (тестизина или PRSS21); рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); антигена Льюиса (Y); CD24; бета-рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFR-бета); стадиоспецифичного эмбрионального антигена-4 (SSEA-4); CD20; альфа-рецептора фолиевой кислоты (FRa или FR1); бета-рецептора фолиевой кислоты (FRb); рецепторной тирозин-протеинкиназы ERBB2 (Her2/neu); муцина 1, ассоциированного с клеточной поверхностью (MUC1); рецептора

эпидермального фактора роста (EGFR); молекулы адгезии нервных клеток (NCAM); простазы; кислой фосфатазы предстательной железы (PAP); мутированного фактора элонгации 2 (ELF2M); эфрина B2; альфа-белка активации фибробластов (FAP); рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептора IGF-1); карбоангидразы IX (CAIX); субъединицы протеасомы (просомы, макропаина), бета-типа, 9 (LMP2); гликопротеина 100 (gp100); онкогенного гибридного белка, состоящего из точки разрыва кластерной области (BCR); гомолога 1 вирусного онкогена мышинного лейкоза Абельсона (Abl) (bcg-abl); тирозиназы; рецептора 2 эфрина типа A (EphA2); сиалиновой молекулы адгезии Льюиса (sLe); ганглиозида GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDC1alp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer); трансклутаминазы 5 (TGS5); ассоциированного с меланомой высокомолекулярного антигена (HMWMAA); ганглиозида о-ацетил-GD2 (OAcGD2); опухолевого эндотелиального маркера 1 (TEM1/CD248); связанного с опухолевым эндотелиальным маркером 7 (TEM7R); клаудина 6 (CLDN6); рецептора тиреотропного гормона (TSHR); сопряжённого с G-белком рецептора, класс C, группа 5, представитель D (GPRC5D); открытой рамки считывания 61 хромосомы X (CXORF61); CD97; CD179a; киназы анапластической лимфомы (ALK); полисиаловой кислоты; плацентарно-специфического белка 1 (PLAC1); гексасахаридной части гликоцерамида globoH (GloboH); антигена дифференцировки молочной железы (NY-BR-1); уроплакина 2 (UPK2); клеточного рецептора 1 вируса гепатита A (HAVCR1); адренорецептора бета 3 (ADRB3); паннексина 3 (PANX3); сопряжённого с G-белком рецептора 20 (GPR20); комплекса лимфоцитарного антигена 6, локус К 9 (LY6K); обонятельного рецептора 51E2 (OR51E2); белка альтернативной рамки считывания TCR гамма (TARP); белка опухоли Вильмса (WT1); антигена рака/семенников 1 (NY-ESO-1); антигена рака/семенников 2 (LAGE-1a); антигена 1, ассоциированного с меланомой (MAGE-A1); гена 6 транслокационного варианта ETS, расположенного на хромосоме 12p (ETV6-AML); белка спермы 17 (SPA17); представителя 1A семейства X-антигена (XAGE1); рецептора 2 клеточной поверхности, связывающего ангиопоэтин (Tie 2); антигена-1 меланомы, рака/семенников (MAD-CT-1); антигена-2 меланомы, рака/семенников (MAD-CT-2); Fos-родственного антигена 1; опухолевого белка p53 (p53); мутанта p53; простеина; сурвивина; теломеразы; опухолевого антигена-1 карциномы предстательной железы (PCT A-1 или галектина 8), антигена-1 меланомы, распознаваемого T-клетками (MelanA или MART1); мутанта белка саркомы крысы (Ras); обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT); точек разрыва транслокации саркомы; ингибитора апоптоза меланомы (ML-IAP); ERG (сериновой трансмембранной протеазы 2 (TMPRSS2) гибридного гена ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансферазы V (NA17); парного бокс-белка 3, Pax-3 (PAX3);

рецептора андрогена; циклина В1; v-мус, гомолога вирусного онкогена миелоцитоматоза птиц, гомолога, происходящего из нейробластомы (MYCN); представителя С семейства гомологов Ras (RhoC); родственного тирозиназе белка 2 (TRP-2); Цитохрома P4501B1 (CYP1B1); CCCTC-связывающего фактора подобного (белкам с цинковым пальцем) (BORIS или Brother of the Regulator of Imprinted Sites), антигена-3 плоскоклеточной карциномы, распознаваемого Т-клетками (SART3); парного бокс-белка 5, Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающего белка sp32 (OY-TE51); специфической для лимфоцитов протеинтирозинкиназы (LCK); якорного белка-4 А-киназы (AKAP-4); белка синовиальной саркомы, точечный разрыв-2 X (SSX2); рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE-1); почечного убиквитарного белка-1 (RUI); почечного убиквитарного белка-2 (RU2); легумаина; Е6 вируса папилломы человека (HPV E6); Е7 вируса папилломы человека (HPV E7); кишечной карбоксиэстеразы; мутированного белка теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; ассоциированного с лейкоцитами иммуноглобулин-подобного рецептора 1 (LAIR1); Fc-фрагмента рецептора IgA (FCAR или CD89); представителя 2 подсемейства А лейкоцитарных иммуноглобулин-подобных рецепторов (LILRA2); представителя f семейства белков, подобных молекулам CD300 (CD300LF); представителя А семейства 12 доменов лектина С-типа (CLEC12A); антигена-2 стромальных клеток костного мозга (BST2); белка-2, подобного муциноподобному гормональному рецептору, содержащему EGF-подобный модуль (EMR2); лимфоцитарного антигена 75 (LY75); глипикана-3 (GPC3); Fc-рецептор-подобного 5 (FCRL5); полипептида-1, подобного иммуноглобулину лямбда (IGLL1); MPL; биотина; эпитопной метки с-MYC; CD34; LAMP1 TROP2; GFRальфа4; CDH17; CDH6; NYBR1; CDH19; CD200R; SleA (CA19.9; сиалилового антигена Льюиса); Фукозил-GM1; PTK7; gpNMB; CDH1-CD324; DLL3; CD276/B7H3; IL11Ra; IL13Ra2; CD179b-IGL11; TCR гамма-дельта; NKG2D, CD32 (FCGR2A); Tn ag; Tim1-/HVCR1; CSF2RA (GM-CSFR-альфа); TGFбетаR2; Lews Ag; цепи TCR-бета1; цепи TCR-бета2; цепи TCR-гамма; цепи TCR-дельта; FITC; рецептора лейтенизирующего гормона (LHR); рецептора фолликулостимулирующего гормона (FSHR); рецептора гонадотропного гормона (CGHR или GR); CCR4, GD3; SLAMF6; SLAMF4; гликопротеина оболочки HIV1; HTLV1-Tax; CMV pp65; EBV-EBNA3c; KSHV K8.1; KSHV-gH; гемагглютини́на гриппа А (HA); GAD; PDL1; гуанилилциклазы С (GCC); аутоантитела к десмоглеину 3 (Dsg3); аутоантитела к десмоглеину 1 (Dsg1); HLA; HLA-A; HLA-A2; HLA-B; HLA-C; HLA-DP; HLA-DM; HLA-DOA; HLA-DOB; HLA-DQ; HLA-DR; HLA-G; IgE, CD99; Ras G12V; тканевого фактора 1 (TF1); AFP; GPRC5D; клаудина 18.2 (CLD18A2 или CLDN18A.2); Р-гликопротеина; STEAP1; Liv1; нектин-4; Cripto; gpA33; BST1/CD157; хлоридного канала с низкой

проводимостью (LCCC); TAJ/TROY; MPL (TPO-R); KIR3DL2; CD32b; CD229; Toso; GPC3; BAFF-R; MR1; комплекса CMV-pp65/МНС; и комплекса NYESO-1/МНС.

17. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один SAR по п. 1 или 2, отличающийся тем, что кодируемый полипептид SAR содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов, выбранных из группы, состоящей из:

(i) вариабельной области тяжелой цепи (vH), содержащей последовательность, представленную в любой из SEQ ID No: 10978-11214, или последовательности, по меньшей мере на 70% идентичной ей, или последовательности, по меньшей мере на 70% идентичной в трех определяющих комплементарность областях (CDR) последовательностям, указанным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10978-11214 и 23148-23161, или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR последовательностей, указанных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10978-11214 и 23148-23161 или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10978-11214 и 23148-23161, и которая кодирует полипептид, связывающийся со своим антигеном;

(ii) вариабельной области легкой цепи (vL), содержащей последовательность, представленной в любой из SEQ ID NO: 10736-10972, или последовательности, по меньшей мере на 70% идентичные последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, или последовательности по меньшей мере на 70% идентичные в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), с последовательностями, представленными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, или последовательности с не менее чем 3 заменами в трех CDR из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 10736-10972 и 23136-23147, которая кодирует полипептид, связывающийся со своим антигеном;

(iii) одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv), содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 11220-11456, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, которая кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном;

(iv) домена VHH верблюдовых, содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и

23163-23173, или последовательности, идентичные по меньшей мере на 70% последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11520-11592 и 23163-23173, и/или последовательности по меньшей мере на 70% идентичные в трех областях, определяющих комплементарность (CDR), с последовательностями, указанными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173 или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173 или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11524-11525, 11530-11531, 11549-11575, 11576-11592 и 23163-23173 и которая кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном;

(v) неиммуноглобулинового остова, кодируемого полинуклеотидом любой из SEQ ID NO: 11662-11673 или последовательностей, по меньшей мере на 70% идентичных последовательностям, указанным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11662-11673, или последовательностей которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11662-11673;

(vi) лиганд-связывающего домена рецептора, содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 11674-11691, или, идентичные по меньшей мере на 70% последовательности, которая кодирует полипептид, который связывается с когнатным белком;

(vii) рецептор-связывающего домена лиганда, содержащего последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 11692-11702, 22391-22392, 22402-22404, или последовательности идентичные им по меньшей мере на 70%, и которая кодирует полипептид, который связывается с его когнатным белком;

(viii) одиночного домена vH, содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, или последовательности, идентичные по меньшей мере на 70% последовательностям, представленным в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, и/или последовательности с 70% идентичностью в трех определяющих комплементарность областях (CDR) из последовательностей представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR последовательностей, представленных в любой одной или нескольких из SEQ ID

NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или с теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, указанные в любой одной или нескольких из SEQ ID NO: 11519-11523, 11526-11529, 11532-11548, 11644-11645 и 23174, которая кодирует полипептид, связывающийся со своим антигеном;

(ix) домена связывания адаптера, содержащего последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 11704-11712 или 22383, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, и которая кодирует полипептид, который связывается со своим адаптером;

(x) аутоантигена, содержащего последовательность, представленную в любой из SEQ ID NO: 11687, 22406-22407-11712 или 22383, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, и которая кодирует полипептид, который связывается со своим аутоантителом или клетками, продуцирующими аутоантитела;

(xi) вариабельной области TCR (Va, Vb, Vg или Vd), содержащей последовательность, представленной в любой из SEQ ID NO: 22396-22397 и 11653-11660, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, или последовательности, по меньшей мере с 70% идентичностью трех определяющих комплементарность областей (CDR) из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22396-22397 и 11653-11660, или последовательности с не менее чем 3 заменами в трех CDR указанных последовательностей в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22396-22397 и 11653-11660 или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22396 -22397 и 11653-11660 и которые кодируют полипептид, связывающийся со своим антигеном; и

(xii) одиночного вариабельного домена TCR (svd-TCR), содержащего последовательность, указанную в любой из SEQ ID NO: 22399-22400, или последовательности, идентичные им по меньшей мере на 70%, или последовательности, идентичные на 70-99% в трех определяющих комплементарность областях (CDR), с последовательностями, представленными в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22399-22400, или последовательности с менее чем 3 заменами в трех CDR из последовательностей, представленных в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22399-22400, или последовательности, которые связываются с теми же антигенами-мишенями или теми же эпитопами на антигенах-мишенях, что и последовательности, представленные в любой одной или нескольких SEQ ID NO: 22399-22400, и которая

кодирует полипептид, который связывается со своим антигеном.

18. По меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере один полипептид SAR по п. 1, отличающийся тем, что по меньшей мере один из целевых антигенов экспрессируется на клетках линии крови, тогда как по меньшей мере один из целевых антигенов экспрессируется на солидных опухолевых клетках.

19. Рекомбинантная экспрессирующая система, содержащая рекомбинантный полинуклеотид по п. 1, коэкспрессируемый с терапевтическим контролем, причем терапевтический контроль выбран из группы, состоящей из рецептора укороченного эпидермального фактора роста (tEGFR), укороченного рецептора эпидермального фактора роста viii (tEGFRviii), укороченного CD30 (tCD30), укороченного BCMA (tBCMA), укороченного CD19 (tCD19), CD34, тимидинкиназы, цитозиндезаминазы, нитроредуктазы, ксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, каспазы 8 человека, каспазы 9 человека, индуцируемой каспазы 9 (икаспазы 9), пурипнуклеозидфосфорилазы, линамаразы/линамарина/глюкозооксидазы, дезоксирибонуклеозидкиназы, пероксидазы хрена (HRP)/индол-3-уксусной кислоты (IAA), гамма-глутамилцистеинсинтетазы, CD20/альфаCD20, химеры CD34/тимидинкиназы, дох-зависимой каспазы-2, мутантной тимидинкиназы (HSV-TKSR39), системы AP1903/Fas, химерного цитокинового рецептора (CCR), 41BBL, CD40L, K13, MC159, cFLIP-L/MRIT α , cFLIP-p22, HTLV1 Tax, HTLV2 Tax, мутанта HTLV2 Tax-RS, FKBPx2-K13, FKBPx2-HTLV2-Tax, FKBPx2-HTLV2-Tax-RS, IL6R-304-vHH-Alb8-vHH, IL12f, PD1-4H1 scFV, PD1-5C4 scFV, PD1-4H1-Alb8 -vHH, PD1-5C4-Alb8-vHH, CTLA4-ипилимумаба-scFv, CTLA4-ипилимумаба-Alb8-vHH, IL6-19A-scFV, IL6-19A-scFV-Alb8-vHH, sHVEM, sHVEM-Alb8-vHH, hTERT, Fx06, CD3z, CD3z-GGGS-41BB, CD3-BBz, CD3-CD28z, гибридного белка CD3-CD28-Lck, кшРНК, нацеленной на Brd4, химерного антигенного рецептора (CAR), hTERT, гепариназы, CAR, ингибирующего CAR и их комбинации и их комбинаций.

20. По меньшей мере один вектор, содержащий рекомбинантный полинуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что вектор выбран из группы, состоящей из ДНК-вектора, РНК-вектора, плазмиды, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора, ретровирусного вектора, бакуловирусного вектора, транспозонного вектора sleeping beauty и транспозонного вектора piggybac.

21. По меньшей мере один полипептид SAR, кодируемый по меньшей мере одним рекомбинантным полинуклеотидом по п. 1.

22. Рекомбинантная клетка или клеточная популяция, которая экспрессирует по меньшей мере один рекомбинантный полинуклеотид по п. 1.

23. Клетка или клеточная популяция по п. 22, отличающаяся тем, что клетка представляет собой иммунную эффекторную клетку или стволовую клетку, которая может дать начало иммунной эффекторной клетке, или индуцированную плюрипотентную стволовую клетку (ИПСК), которая может дать начало иммунной эффекторной клетке.

24. Клетка или клеточная популяция по п. 22, где клетка представляет собой аутологичную клетку или аллогенную клетку.

25. Клетка или клеточная популяция по п. 22 с нарушенной или отмененной функциональной экспрессией эндогенного TCR и с функциональной экспрессией полипептида SAR.

26. Клетка или клеточная популяция по п. 22, где полипептид SAR экспрессируется экспрессирующей кассетой, помещенной в локус эндогенного гена T-клетки.

27. Клетка или клеточная популяция по п. 22, где по меньшей мере один полинуклеотид находится под контролем промотора и/или регуляторных элементов эндогенного гена T-клетки.

28. Клетка или популяция клеток по пп. 26 или 27, где локус эндогенного гена T-клеток представляет собой локус TRAC, локус TRBC, локус TRGC и/или локус TRDC.

29. Клетка или клеточная популяция по пп. 26 и/или 27, отличающиеся тем, что размещение полинуклеотида SAR нарушает или отменяет эндогенную экспрессию TCR, содержащего эндогенную цепь TCR α и/или эндогенную цепь TCR β , или эндогенную цепь TCR γ и/или эндогенная цепь TCR δ в T-клетке.

30. Клетка или клеточная популяция по пп. 26 и 27, отличающиеся тем, что нарушение или отмена экспрессии эндогенного TCR приводит к усилению экспрессии и/или активности неприродного иммунного рецептора по сравнению с его экспрессией и/или активностью в T-клетках с эндогенным TCR дикого типа.

31. Клетка или клеточная популяция по п. 30, отличающаяся тем, что SAR имеет каркас одного или нескольких из числа SIR, cTCR и/или Ab-TCR.

32. Клетка или клеточная популяция по пп. 25 или 29, отличающиеся тем, что полипептид SAR имеет каркас TFP, а нарушение или отмена экспрессии эндогенного TCR приводит к нарушению экспрессии и/или активности SAR по сравнению с его экспрессией и/или активностью в T-клетках с эндогенным TCR дикого типа.

33. Клетка или клеточная популяция по п. 32, отличающаяся тем, что полипептид SAR имеет каркас TFP, а клетка или клеточная популяция дополнительно экспрессирует последовательность, кодирующую константную цепь TCR, при этом константная цепь

TCR представляет собой

- i) константную цепь TCR-альфа или ее фрагмент, или
- ii) константную цепь TCR-бета или ее фрагмент, или
- iii) константную цепь TCR-гамма или ее фрагмент, или
- iv) константную цепь TCR-дельта или ее фрагмент, или
- v) комбинацию i) и ii) или iii) и iv)

34. Клетка или популяция клеток по п. 33, отличающиеся тем, что экспрессия последовательности, кодирующей константную цепь TCR, восстанавливает экспрессию и/или активность полипептида SAR.

35. Способ получения SAR-экспрессирующей иммунной эффекторной клетки, включающий введение по меньшей мере одного вектора по п. 20 или по меньшей мере одного рекомбинантного полинуклеотида по п. 1 в иммунную эффекторную клетку или гемопоэтическую стволовую клетку или клетку-предшественник, которая может служить источником иммунной эффекторной клетки в таких условиях, при которых экспрессируется полипептид SAR.

36. Способ размножения SAR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток по п. 22 в газопроницаемом флаконе в нормоксических или гипоксических условиях.

37. Способ по п. 36, отличающийся тем, что иммунные эффекторные клетки, экспрессирующие SAR, размножаются в присутствии миметика SMAC или соединения-агониста NIK.

38. Способ обеспечения иммунитета против болезни у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества иммунной эффекторной клетки или стволовой клетки, которые могут дать начало иммунной эффекторной клетки по любому из пп. 22-35, где клетка представляет собой аутологичные Т-клетки или аллогенные Т-клетки, или аутологичные NKT-клетки, или аллогенные NKT-клетки, или аутологичные, или аллогенные гемопоэтические стволовые клетки, или аутологичные или аллогенные iPSC, которые могут давать иммунную эффекторную клетку.

39. Способ лечения или профилактики заболевания, связанного с экспрессией антигена, ассоциированного с заболеванием, у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества иммунной эффекторной клетки, содержащей полипептид синтетического антигенного рецептора (SAR), где полипептид SAR связывается с одним или несколькими ассоциированными с заболеванием антигенами, выбранными из группы, состоящей из: CD5, CD19; CD123; CD22; CD23, CD30; CD171; CS-1 (также называемого CD2 подгруппы 1, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); лектиноподобной молекулы-1 С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; варианта III рецептора эпидермального фактора роста

(EGFRviii); ганглиозида G2 (GD2); ганглиозида GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); В-клеточного антигена созревания, представителя семейства рецепторов TNF (BCMA); антигена Tn (Tn Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr)); простатспецифического мембранного антигена (PSMA); орфанного рецептора 1, подобного рецепторной тирозинкиназы (ROR1); Fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3); опухолеассоциированного гликопротеина 72 (TAG72); CD38; CD44v6; гликозилированного эпитопа CD43, экспрессируемого при остром лейкозе или лимфоме, но не на гемопоэтических предшественниках, гликозилированного эпитопа CD43, не экспрессируемого при гемобластозах, карциноэмбрионального антигена (CEA); молекулы адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); B7H3 (CD276); KIT (CD117); субъединицы альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелина; рецептора интерлейкина 11 альфа (IL-11Ra); антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновой протеазы 21 (тестизина или PRSS21); рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); антигена Льюиса (Y); CD24; бета-рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFR-бета); стадиоспецифического эмбрионального антигена-4 (SSEA-4); CD20; альфа-рецептора фолиевой кислоты (FRa или FR1); бета-рецептора фолиевой кислоты (FRb); рецепторной тирозин-протеинкиназы ERBB2 (Her2/neu); муцина 1, ассоциированного с клеточной поверхностью (MUC1); рецептора эпидермального фактора роста (EGFR); молекулы адгезии нервных клеток (NCAM); простазы; кислой фосфатазы предстательной железы (PAP); мутированного фактора элонгации 2 (ELF2M); эфрина B2; альфа-белка активации фибробластов (FAP); рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептора IGF-I), карбоангидразы IX (CAIX); субъединицы протеасомы (просомы, макропаина), бета-типа, 9 (LMP2); гликопротеина 100 (gp100); онкогенного гибридного белка, состоящего из точки разрыва кластерной области (BCR) и гомолога 1 вирусного онкогена мышинового лейкоза Абельсона (Abl) (bcr-abl); тирозиназы; рецептора 2 эфрина типа A (EphA2); фукозил GM1; сиалиновой молекулы адгезии Льюиса (sLe); ганглиозида GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDCIalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); трансглутаминазы 5 (TGS5); ассоциированного с меланомой высокомолекулярного антигена (HMWMAA); ганглиозида о-ацетил-GD2 (OAcGD2); опухолевого эндотелиального маркера 1 (TEM1/CD248); связанного с опухолевым эндотелиальным маркером 7 (TEM7R); клаудина 6 (CLDN6); рецептора тиреотропного гормона (TSHR); сопряжённого с G-белком рецептора, класс C, группа 5, представитель D (GPRC5D); открытой рамки считывания 61 хромосомы X (CXORF61); CD97; CD179a; киназы анапластической лимфомы (ALK); полисиаловой кислоты; плацентарно-специфического белка 1 (PLAC1); гексасахаридной части гликоцерамида globoH (GloboH); антигена

дифференцировки молочной железы (NY-BR-1); уроплакина 2 (UPK2); клеточного рецептора 1 вируса гепатита А (HAVCR1); адренорецептора бета 3 (ADRB3); паннексина 3 (PANX3); сопряжённого с G-белком рецептора 20 (GPR20); комплекса лимфоцитарного антигена 6, локус К 9 (LY6K); обонятельного рецептора 51E2 (OR51E2); белка альтернативной рамки считывания TCR гамма (TARP); белка опухоли Вильмса (WT1); антигена рака/семенников 1 (NY-ES0-1); антигена рака/семенников 2 (LAGE-1a); антигена 1, ассоциированного с меланомой (MAGE-A1); гена 6 транслокационного варианта ETS, расположенного на хромосоме 12p (ETV6-AML); белка спермы 17 (SPA17); представителя 1А семейства X-антигена (XAGE1); рецептора 2 клеточной поверхности, связывающего ангиопоэтин (Tie 2); антиген-1 меланомы, рака/семенников (MAD-CT-1); антиген-2 меланомы, рака/семенников (MAD-CT-2); Fos-родственного антигена 1; опухолевого белка p53 (p53); мутанта p53; протеина; сурвивина; теломеразы; опухолевого антигена-1 карциномы предстательной железы (PCT A-1 или галектина 8), антигена-1 меланомы, распознаваемого Т-клетками (MelanA или MART1); мутанта белка саркомы крысы (Ras); обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT); точек разрыва транслокации саркомы; ингибитора апоптоза меланомы (ML-IAP); ERG (сериновой трансмембранной протеазы 2 (TMPRSS2) гибридного гена ETS); N-ацетилглюкозаминилтрансферазы V (NA17); парного бокс-белка 3, Pax-3 (PAX3); рецептора андрогена; циклина B1; v-мус, гомолога вирусного онкогена миелоцитоматоза птиц, гомолога, происходящего из нейробластомы (MYCN); представителя С семейства гомологов Ras (RhoC); родственного тирозиназе белка 2 (TRP-2); Цитохрома P4501B1 (CYP1B1); CCCTC-связывающего фактора подобного (белкам с цинковым пальцем) (BORIS или Brother of the Regulator of Imprinted Sites), антигена-3 плоскоклеточной карциномы, распознаваемого Т-клетками (SART3); парного бокс-белка 5, Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающего белка sp32 (OY-TES1); специфической для лимфоцитов протеинтирозинкиназы (LCK); якорного белка-4 А-киназы (AKAP-4); белка синовиальной саркомы, точечный разрыв-2 X (SSX2); рецептора конечных продуктов продвинутого гликозилирования (RAGE-1); почечного убиквитарного белка-1 (RU1); почечного убиквитарного белка-2 (RU2); легумаина; Е6 вируса папилломы человека (HPV E6); Е7 вируса папилломы человека (HPV E7); кишечной карбоксиэстеразы; мутированного белка теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; ассоциированного с лейкоцитами иммуноглобулин-подобного рецептора 1 (LAIR1); Fc-фрагмента рецептора IgA (FCAR или CD89); представителя 2 подсемейства А лейкоцитарных иммуноглобулин-подобных рецепторов (LILRA2); представителя f семейства белков, подобных молекулам CD300 (CD300LF); представителя А семейства 12 доменов лектина С-типа (CLEC12A); антигена-2 стромальных клеток

костного мозга (BST2); белка-2, подобного муциноподобному гормональному рецептору, содержащему EGF-подобный модуль (EMR2); лимфоцитарного антигена 75 (LY75); глипикана-3 (GPC3); Fc-рецептор-подобного 5 (FCRL5); и полипептида-1, подобного иммуноглобулину лямбда (IGLL1), MPL, биотина, эпитопной метки с-MYC, CD34, LAMP1 TROP2, GFRальфа4, CDH17, CDH6, NYBR1, CDH19, CD200R, SleA (CA19.9; сиалилового антигена Льюиса); Фукозил-GM1, PTK7, gpNMB, CDH1-CD324, DLL3, CD276/B7H3, IL11Ra, IL13Ra2, CD179b-IGL11, TCR гамма-дельта, NKG2D, CD32 (FCGR2A), Tim1-/HVCR1, CSF2RA (GM-CSFR-альфа), TGFбетаR2, Lews Ag, цепи TCR-бета1, цепи TCR-бета2, цепи TCR-гамма, цепи TCR-дельта, FITC, рецептора лейтенизирующего гормона (LHR), рецептора фолликулостимулирующего гормона (FSHR), рецептора хорионического гонадотропного гормона (CGHR), CCR4, SLAMF6, SLAMF4, гликопротеина оболочки HIV1, HTLV1-Tax, CMV pp65, EBV-EBNA3c, KSHV K8.1, KSHV-gH, гемагглютинирина гриппа А (HA), GAD, PDL1, гуанилатциклазы С (GCC), аутоантител к десмоглеину 3 (Dsg3) и десмоглеину 1 (Dsg1), HLA, HLA-A, HLA-A2, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DM, HLA-DOA, HLA-DOB, HLA -DQ, HLA-DR, HLA-G, IGE, CD99, RAS G12V, тканевого фактора 1 (TF1), AFP, GPRC5D, клаудина 18.2 (CLD18A2 ИЛИ CLDN18A.2)), Р-гликопротеина, STEAP1, LIV1, NECTIN-4, CRIPTO, GPA33, BST1/CD157, хлоридного канала с низкой проводимостью, TAJ/TROY, MPL (TPO-R), KIR3DL2, CD32b, CD229, Toso, GPC3, MR1, комплекса NYESO-1/МНС, комплекса CMVpp65/МНС.

40. Способ по п. 39, отличающийся тем, что заболевание, связанное с экспрессией антигена, ассоциированного с заболеванием, выбрано из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, преанцерового состояния, рака, и не связанного с раком показания, связанных с экспрессией антигена, ассоциированного с заболеванием.

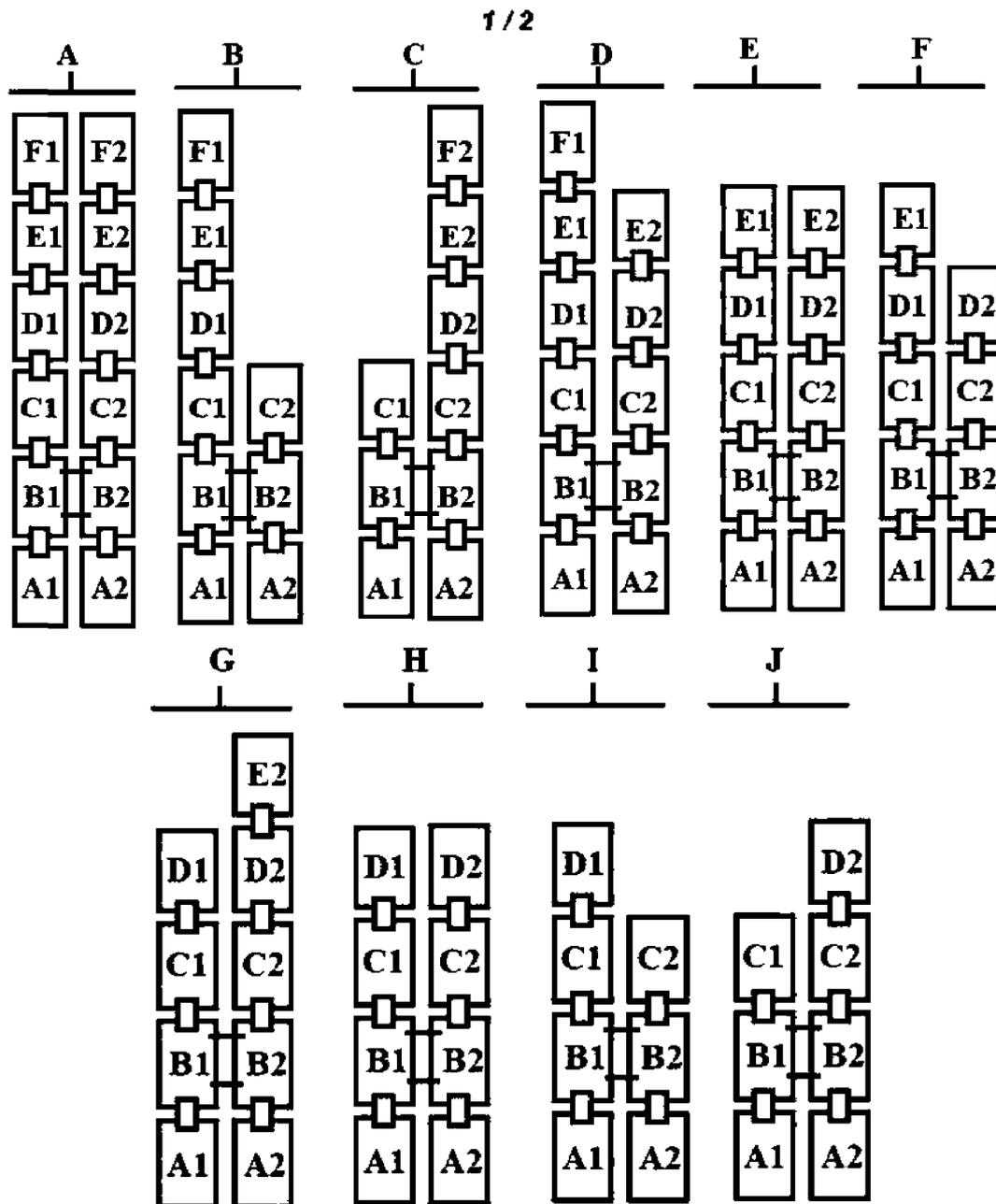
41. Рекомбинантный полинуклеотид, кодирующий полипептид SAR, содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1849-10720, 21609-21625, 21626-21659, 21662-21792, 21808, 21813-21840, 21843-21879, 21882- 21892, 21894-21899, 21901-21947, 21949-21963, 21967-21972, 21985-22085, 22087-22099, 22104-22207, 22209-22250, 22252-22254, 22256-22262, 22264-22273, 22275-22284, 22286-22296 и 22307-22312, или последовательности, по меньшей мере, на 75% идентичной указанной выше нуклеотидной последовательности.

42. Аминокислотная последовательность, кодирующая полипептид синтетического антигенного рецептора (SAR), выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12539-21410, 22445-22460, 22462-22495, 22498-22614, 22624, 22626-22655, 22658-22685, 22687-22694, 22697-22707, 22709-22714, 22716-22762, 22764-22778, 22782-22787, 22800-22900,

22902-22914, 22919-23022, 23024-23065, 23067-23069, 23071-23077, 23090-23099, 23101-23111 и 23122-23127, или последовательности, которая по меньшей мере на 75% идентична аминокислотной последовательности из числа вышеперечисленных.

43. Композиция, содержащая по меньшей мере один полинуклеотид по пп. 1 или 41, молекулу полипептида SAR по пп. 21 или 42, вектор по п. 20 или клетку по любому из пп. 22-34 и фармацевтически приемлемый эксципиент.

44. Набор, содержащий по меньшей мере один полинуклеотид по пп. 1 или 41, полипептид SAR по пп. 21 или 42, вектор по п. 20 или клетку по любому из пп. 22-34.



A1/A2 = домен константной цепи TCR, содержащий соединяющий пептид (Таблица 14), трансмембранный (Таблица 15) и цитозольный домен (Таблица 16)

B1/B2 = Ig-подобный линкерный домен (например, IgCL, IgG1-CH1, TCRa-Ig-подобный-C1-Домен-6MD и т.п.; см. Таблицу 13)

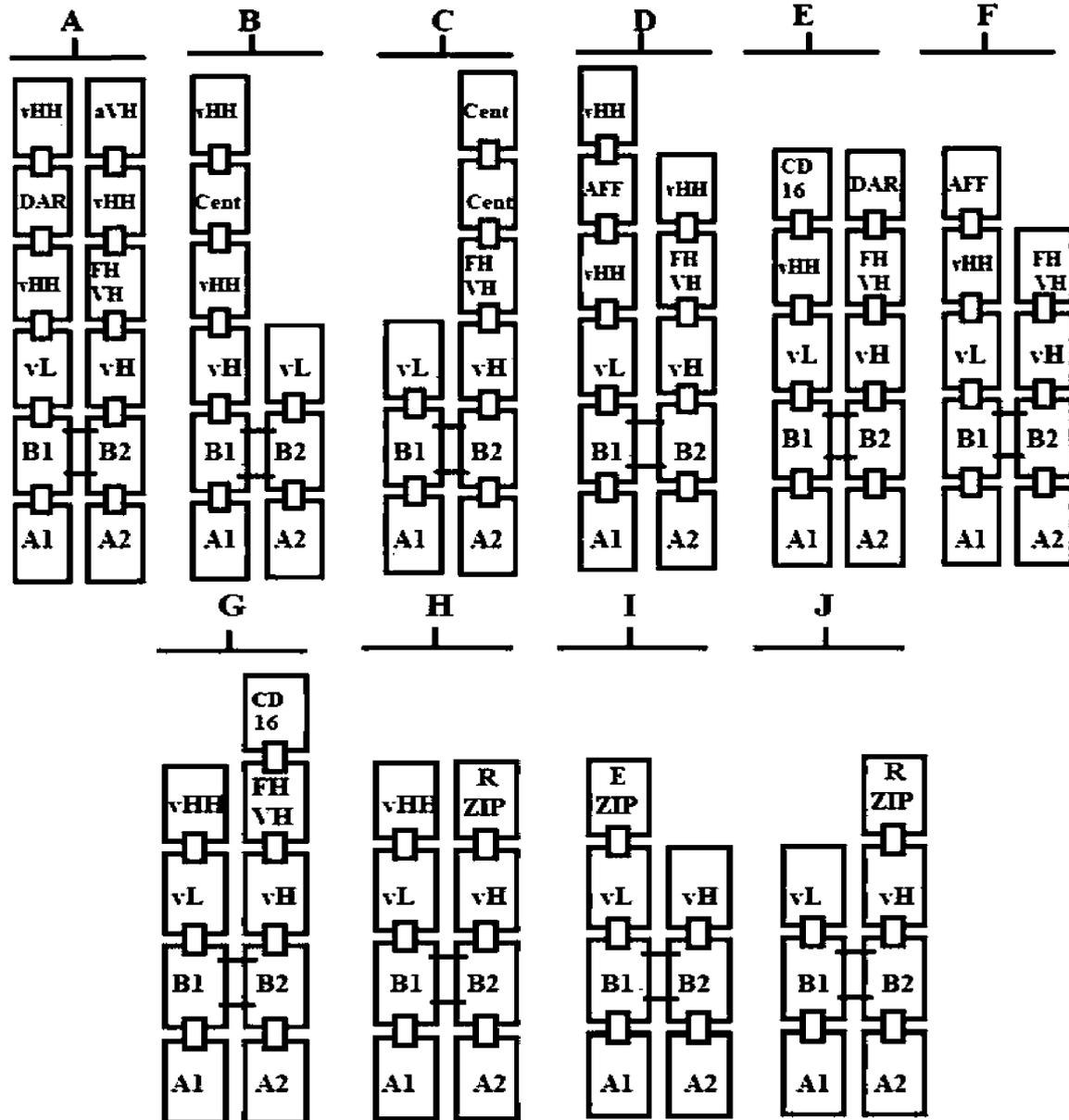
C1/C2 = v_L , V_H , V_a , V_b , V_g , V_d

D1/D2 = AABD

E1/E2 = AABD

F1/F2=AABD

ФИГ. 1



A1/A2 = домен константной цепи TCR, содержащий соединяющий пептид (Таблица 14), трансмембранный (Таблица 15) и цитозольный домен (Таблица 16)
 B1/B2 = Ig-подобный линкерный домен (например, IgCL, IgG1-CH1, TCR α -Ig-подобный-C1-Домен-6MD и т.п.; см. Таблицу 13)

C1/C2 = vL, vH, Va, Vb, Vg, Vd

vHH = AABD

DAR = ДАРПИН

Cent = Центирин

AFF = Аффибоди

FHvH = полностью человеческий домен vH (SVH)

aVH = автономный домен vH (SVH)

CD16 = мутант CD16-V158

Необязательные линкеры представлены черными вертикальными полосами между различными модулями

Фиг. 2