

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292778 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.21(22) Дата подачи заявки
2021.03.31(51) Int. Cl. C12N 15/85 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C12N 15/87 (2006.01)

(54) МОДИФИЦИРОВАННЫЕ В-КЛЕТКИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/003,120

(32) 2020.03.31

(33) US

(86) PCT/US2021/025273

(87) WO 2021/202810 2021.10.07

(88) 2021.11.11

(71) Заявитель:
УОКИНГ ФИШ ТЕРАПЬЮТИКС,
ИНК. (US)

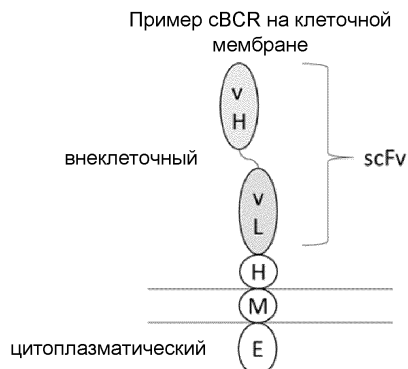
(72) Изобретатель:

Бойл Кэтлин, Парк Хэнджил,
Котхакота Сринивас, Селби Марк,
Бреннан Томас, Уилльямс Льюис Т.
(US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к генетически модифицированным В-клеткам и их применениям, например, для лечения различных заболеваний и расстройств, включая рак, болезни сердца, воспалительные заболевания, заболевания, связанные с истощением мышечной ткани, неврологические заболевания и т.п. В отдельных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке ("CAR-В-клетке"), способной экспрессировать химерный рецептор ("CAR-В-рецептор"), где указанный химерный рецептор содержит (a) внеклеточный домен; (b) трансмембранный домен и (c) цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен. В различных вариантах осуществления изобретение включает выделенную модифицированную В-клетку, где указанная В-клетка способна экспрессировать и секретировать полезную нагрузку, где полезная нагрузка естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке. В различных вариантах осуществления полезная нагрузка представляет собой антитело или его фрагмент.



vH: переменная область тяжелой цепи

vL: переменная область легкой цепи

H: шарнирная область

M: трансмембранный домен

E: цитоплазматический сигнальный домен

A1

202292778

202292778

A1

**МОДИФИЦИРОВАННЫЕ В-КЛЕТКИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

[1] Большинство методов клеточной иммунотерапии, известных на сегодняшний день, основаны на Т-клетках. Например, методы иммунотерапии рака в первую очередь направлены на модификацию и введение Т-клеток - усиление ответа Т-киллеров на опухоль. Однако модификация В-клеток для лечения различных заболеваний является методом, который широко не изучался, несмотря на ключевую роль В-клеток в иммунных ответах.

[2] В-клетки, также известные как В-лимфоциты, представляют собой тип белых кровяных телец, ответственных, среди прочего, за помощь организму в противостоянии инфекциям и заболеваниям. Они являются частью нашей адаптивной иммунной системы и способны к различным иммунным ответам, например, к секреции антител в ответ на распознанный антиген. Кроме того, В-клетки способны презентировать антигены, а также могут секретировать цитокины.

[3] Многие В-клетки созревают в плазматические клетки, которые вырабатывают антитела (белки), способные бороться с инфекциями. Другие В-клетки созревают в В-клетки памяти. Все плазматические клетки, происходящие от одной В-клетки, продуцируют одно и то же антитело, направленное против антигена, стимулировавшего его созревание. Тот же принцип справедлив и для В-клеток памяти. Таким образом, все плазматические клетки и клетки памяти «помнят» стимул, приведший к их образованию. В-клетка, или В-лимфоцит, не зависит от тимуса, имеет короткую продолжительность жизни и отвечает за выработку иммуноглобулинов. См., например, <https://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=2413>. Таким образом, В-клетка является иммунологически важной клеткой.

[4] В-клетки, по-видимому, связаны с результатами лечения рака у пациентов. Например, наличие третичных лимфоидных структур (TLS) связано с лучшими результатами лечения пациентов. См., например, Helmink, B.A., et al., *Nature*, 2020, 577(7791), 549-555; Petitprez F et al., *Nature*, 2020, 577(7791), 556-560. TLS представляют собой агрегаты иммунных клеток (в основном Т- и В-клеток), которые возникают в ответ на иммунологические стимулы. Хотя TLS, которые окружают опухолевые клетки, включают В-клетки, роль В-клеток в противоопухолевых ответах остается неясной. В-клетки, обнаруженные в опухолях, могут продуцировать ингибирующие факторы, препятствующие функционированию иммунных клеток. См., например, Kessel, A., et al., *Autoimmun Rev.*, 2012, 11(9), 670-677; Khan, A.R., et al., *Nature Commun.*, 2015, 6, 5997. Кроме того, текущие данные указывают на то, что В-клетки препятствуют противоопухолевым ответам в большинстве моделей рака у мышей. Affara, N.I., et al. *Cancer Cell*, 2014, 25(6), 809-821; Shalapour, S., et al., *Nature*, 2017, 551, 340-345; Ammirante, M. et al., *Nature*, 2010, 464, 302-305. Тем не менее, присутствие В-клеток в

структурах TLS коррелирует с положительными клиническими результатами иммунотерапии рака. Petitprez 2020. Было показано, что внутриопухолевая инъекция активированных LPS клеток селезенки, которые включают В-клетки, в сочетании с ингибиторами контрольных точек вызывает противоопухолевые ответы. Soldevilla et al., Oncoimmunology, 2018, 7:8, e1450711.

[5] CD79 (также называемый «кластером дифференцировки 79») представляет собой трансмембранный белок, который образует комплекс с В-клеточным рецептором и способен генерировать сигнал после распознавания антигена В-клеточным рецептором. N1 CD79 состоит из двух разных цепей, известных как CD79A и CD79B (также называемых Igα и Igβ). CD79a и CD79b оба являются членами надсемейства иммуноглобулинов. Они образуют гетеродимер на поверхности В-клеток, стабилизированный дисульфидной связью. Обе цепи CD79 содержат мотив активации иммунорецептора на основе тирозина («ITAM») в своих внутриклеточных хвостовых областях, которые распространяют сигнал в В-клетке. N2

[6] Учитывая естественную способность В-клеток презентировать антигены и секретировать белки, существует большой потенциал их применения в качестве клеточной терапии для нацеливания на определенные типы больных клеток и секреции терапевтических полезных нагрузок. Таким образом, существует потребность в альтернативных методах лечения помимо видов Т-клеточной терапии, таких как сконструированные В-клетки, для лечения различных заболеваний и расстройств, включая рак, болезни сердца, воспалительные заболевания, заболевания, связанные с истощением мышечной ткани, неврологические заболевания и т. п.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[7] Было обнаружено, что сконструированные В-клетки могут быть эффективными для лечения различных заболеваний и расстройств, перечисленных в настоящем документе. Таким образом, изобретение относится к модифицированным В-клеткам.

[8] Также было обнаружено, что CD79a (иммуноглобулин α) при включении во внутриклеточный сигнальный домен конструкций CAR-B согласно изобретению проявляет превосходные характеристики по сравнению с CD79b (иммуноглобулином β). Кроме того, также было обнаружено, что при использовании в конструкциях CAR-B, описанных в настоящем документе, внутриклеточный CD79b (иммуноглобулин β) не оказывает (или даже оказывает отрицательное) влияние на эффективность. Таким образом, изобретение относится, среди прочего, к конструкциям CAR-B, содержащим внутриклеточный сигнальный домен CD79a.

[9] В отдельных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке («CAR-В-клетке»), способной экспрессировать химерный рецептор («CAR-В-рецептор»), где указанный химерный рецептор содержит (а) внеклеточный домен; (b) трансмембранный домен; и (с) цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен. Цитоплазматический домен предпочтительно содержит CD79a. В различных вариантах осуществления внеклеточный

домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен(ы) распознает по меньшей мере один антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени. В различных вариантах осуществления клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи и эндотелиальной клетки. В различных вариантах осуществления В-клетка экспрессирует более одной конструкции CAR-В-рецептора. В различных вариантах осуществления CAR-В-рецептор содержит более одного внеклеточного связывающего домена. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), или полноразмерное антитело, или внеклеточный домен рецептора или лиганда. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GPC3, ASGR1, ASGR2, саркогликана, корина, FAP (фибробласт-активирующий белок) и Her2. В различных вариантах осуществления шарнирный домен происходит из группы, состоящей из IgG, CD28 и CD8. В различных вариантах осуществления шарнирный домен состоит из последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27, 29, 31. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеточных рецепторов. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен.

[10] В различных вариантах осуществления изобретение включает выделенную модифицированную В-клетку, где указанная В-клетка способна экспрессировать и секретировать полезную нагрузку, где полезная нагрузка естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке. В различных вариантах осуществления полезная нагрузка представляет собой антитело или его фрагмент. В различных вариантах осуществления антитело представляет собой секретлируемое антитело и может включать блокирующие антитела (например, анти-PD-1) или антитела-агонисты (анти-CD137, GITR, OX40), сконструированные таким образом, чтобы они содержали нативные или сконструированные Fc-области, и может быть растворимым или мембраносвязанным. В различных вариантах осуществления полезная нагрузка(и) может представлять собой иммуномодуляторы, такие как хемокины или цитокины. В различных вариантах полезная нагрузка выбрана из группы, состоящей из: IL-1, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL18, IL-21, интерферона α , интерферона β , интерферона γ , TSLP, CCL21, FLT3L, XCL1, LIGHT(TNFSF14), OX40L, CD137L, CD40L, ICOSL, антитела к CD3, CD47, TIM4-FC,

CXCL13, CCL21, CD80, CD40L, IFN α A2, LIGHT, 4-1BBL, MDGF (C19orf10), FGF10, PDGF, агрина, TNF- α , GM-CSF, антитела к FAP, антитела к TGF- β ; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей TGF- β ; антитела к BMP; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей BMP. В различных вариантах осуществления В-клетка способна экспрессировать более одной полезной нагрузки. В различных вариантах осуществления В-клетка способна экспрессировать более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 полезных нагрузок.

[11] В различных вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения пациента, включающему введение модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению. В различных вариантах осуществления модифицированную В-клетку вводят интратуморально, внутривенно, подкожно или внутрикожно. В различных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора контрольной точки. В различных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки предназначен для молекулы контрольной точки, выбранной из группы, состоящей из белков PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIM-3 и NKG2A. В различных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой моноклональное антитело.

[12] В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, способной экспрессировать химерный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит (а) внеклеточный домен, где внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен; (b) трансмембранный домен; и (с) цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен, где указанная модифицированная В-клетка дополнительно способна экспрессировать полезную нагрузку, где полезная нагрузка естественным образом не экспрессируется на поверхности клетки. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени. В различных вариантах осуществления клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи и эндотелиальной клетки. В различных вариантах осуществления В-клетка экспрессирует более одной конструкции CAR-В-рецептора. В различных вариантах осуществления CAR-В-рецептор содержит более одного внеклеточного связывающего домена. В различных вариантах внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), антитело или внеклеточный домен рецептора или лиганда. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из PSMA, GP3, ASGR1, ASGR2, саркогликана, корина, FAP и Her2. В различных вариантах осуществления шарнирный домен происходит из группы, состоящей из IgG, CD28 и CD8. В различных вариантах осуществления шарнирный домен состоит из последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID

NO: 27, 29 и 31. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеток. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен. В различных вариантах осуществления полезная нагрузка представляет собой секретируемое или мембраносвязанное антитело или его фрагмент. В различных вариантах полезная нагрузка выбрана из группы, состоящей из: IL-1, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, IL-21, интерферона α , интерферона β , интерферона γ , TSLP, CCL21, FLT3L, XCL1, LIGHT(TNFSF14), OX40L, CD137L, CD40L, ICOSL, антитела к CD3, CD47, TIM4-FC, CXCL13, CCL21, CD80, CD40L, IFN α A2, LIGHT, 4-1BBL, MDGF (C19orf10), FGF10, PDGF, агрина, TNF- α , GM-CSF, антитела к FAP, антитела к TGF- β ; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей TGF- β ; антитела к BMP; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей BMP. В различных вариантах осуществления В-клетка способна экспрессировать более одной полезной нагрузки. В различных вариантах осуществления В-клетка способна экспрессировать более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 полезных нагрузок. В различных вариантах осуществления модифицированная В-клетка дополнительно кодирует по меньшей мере один белок, выбранный из группы, состоящей из: цитоплазматических доменов CD79a, CD79b, CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, CD3 ζ и MyD88. В различных вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения пациента, включающему введение модифицированной В-клетки. В различных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора контрольной точки. В различных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки выбран из ингибиторов одной или более молекул контрольных точек из группы, состоящей из: PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIM-3 и NKG2A. В различных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой моноклональное антитело. В различных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, способной экспрессировать химерный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит внеклеточный домен, где указанный внеклеточный домен содержит шарнирный домен и внеклеточный связывающий домен, где указанный внеклеточный связывающий домен естественным образом не экспрессируется на В-клетке; и где указанный внеклеточный связывающий домен способен распознавать представляющую интерес мишень. В различных вариантах осуществления связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), антитело, лиганд или рецептор. В различных вариантах осуществления связывающий домен представляет собой scFv. В различных вариантах осуществления связывающий домен представляет собой рецептор, лиганд или их фрагмент. В различных вариантах осуществления В-клетка дополнительно способна экспрессировать полезную

нагрузку. В различных вариантах осуществления изобретение включает способ лечения пациента, включающий введение пациенту модифицированной В-клетки.

[13] В различных вариантах осуществления настоящее изобретение включает нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать химерный В-клеточный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит: (а) внеклеточный домен, где указанный внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен; (b) трансмембранный домен; и (с) цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), антитело, рецептор или лиганд. В различных вариантах осуществления клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи и эндотелиальной клетки. В различных вариантах осуществления вектор экспрессирует более одного CAR-В-рецептора. В различных вариантах осуществления CAR-В-рецептор экспрессирует более одного внеклеточного связывающего домена. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GP3, ASGR1, ASGR2, саркогликана, корина, Her2, FAP, MUC1, CEA153, JAM-1 и LFA-1. В различных вариантах осуществления шарнирный домен происходит из группы, состоящей из IgG, CD28 и CD8. В различных вариантах осуществления шарнирный домен состоит из последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27, 29 и 31. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеточных рецепторов. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен.

[14] В различных вариантах осуществления изобретение относится к вектору, содержащему нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать химерный В-клеточный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит: (а) внеклеточный домен, где указанный внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен; (b) трансмембранный домен; и (с) цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок. В различных вариантах осуществления клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи и эндотелиальной клетки. В

различных вариантах осуществления вектор экспрессирует более одного CAR-B-рецептора. В различных вариантах осуществления CAR-B экспрессирует более одного внеклеточного связывающего домена. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), антитело, рецептор или лиганд. В различных вариантах осуществления внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GPC3, ASGR1, AGSR2, саркогликана, корина, Her2, FAP, MUC1, CEA153, JAM-1 и LFA-1. В различных вариантах осуществления шарнирный домен происходит из группы, состоящей из IgG, CD28 и CD8. В различных вариантах осуществления шарнирный домен состоит из последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27, 29 и 31. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеток. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит сигнальный домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен. В различных вариантах осуществления цитоплазматическая область состоит из нескольких, 2 или более, доменов, которые являются одинаковыми или уникальными.

[15] В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, способной экспрессировать интегрин, хоминг-антитело, белок, рецептор или их комбинации, где указанный интегрин, хоминг-антитело, белок или рецептор естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке; и где указанный интегрин, хоминг-антитело, белок, рецептор или их комбинации привлечены к представляющему интерес сайту или мишени. В различных вариантах осуществления интегрин, хоминг-антитело, белок и рецептор выбраны из CLA (гликоформа PSGL-1), CLA (гликоформа PSGL-1), CCR10, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR9, CD43E, CD44, c-Met, CXCR3, CXCR4, LFA-1, LFA-1 (α L β 2), лигандов селектина, VLA-4, VLA-4 (α 4 β 1) и α 4 β 7 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления представляющий интерес сайт представляет собой ткань для хоминга или ткань-мишень, очаг воспаления в определенном месте или ткани, или опухоль или микроокружение опухоли, куда желательна доставка полезных грузов. В различных вариантах осуществления ткань для хоминга или ткань-мишень выбрана из кожи, кишечника (кишечного тракта, толстой кишки, брыжеечных лимфатических узлов (БЛУ), пейеровой бляшки (ПБ), тонкой кишки), печени, легкого, костного мозга, сердца, периферического лимфатического узла (ЛУ), ЦНС (центральная нервная система), вилочковой железы и костного мозга. В различных вариантах осуществления представляющая интерес мишень выбрана из CXCL16, CCL17, CCL17(22), CCL20 (MIP-3 α), CCL21, CCL25, CCL27, CCL28, CCL4, CCL5, CD62E, CD62P,

CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CXCL9/CXCL10, CXCR3, E/P-селектина, E-селектина, GPR15L, HGF, гиалуроната, ICAM-1, лигандов для CCR1, 2, 5, MAdCAM, MAdCAM-1, PNA^d, VAP-1, VCAM и VCAM-1 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления способ включает лечение пациента путем введения выделенной модифицированной В-клетки. В различных вариантах осуществления способ включает дополнительное введение соединения или его производного, где соединение или его производное способно повышать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка и рецептора или их комбинаций. В различных вариантах осуществления соединения или его производное способно изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления соединения представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное.

[16] В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, способной экспрессировать иммуноингибирующую молекулу, где указанная иммуноингибирующая молекула естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке. В различных вариантах осуществления указанная иммуноингибирующая молекула выбрана из IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления указанная иммуноингибирующая молекула способна снижать воспаление и аутоиммунную активность В-клеток в представляющем интерес сайте или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления изобретение относится к способу лечения пациента, включающему введение указанной выделенной модифицированной В-клетки. В различных вариантах осуществления указанная иммуноингибирующая молекула выбрана из IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления указанная иммуноингибирующая молекула способна снижать воспаление и аутоиммунную активность В-клеток в представляющем интерес сайте или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления изобретение относится к дополнительному введению соединения или его производного, способного повышать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций в В-клетке. В различных вариантах осуществления указанное соединение или его производное способно изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления указанное соединение представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное. В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, где выделенная модифицированная В-клетка обработана соединением или его производным, где указанное соединение или его производное способно повышать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций в В-клетках. В различных вариантах осуществления указанное соединение или его производное способно изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления указанное соединение

представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное. В различных вариантах осуществления указанное соединение или его производное способно (i) повышать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций в В-клетках и (ii) изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления указанное соединение представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное.

[17] В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, способной экспрессировать по меньшей мере один или более конститутивно активных толл-подобных рецепторов (TLR), где указанный TLR естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке. В различных вариантах осуществления указанный TLR выбран из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления указанный TLR способен повышать активность В-клеток для повышения иммунных ответов у пациента. В различных вариантах осуществления указанный TLR способен обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента. В различных вариантах осуществления указанная иммуноингибирующая молекула способна снижать воспаление и аутоиммунную активность В-клеток в представляющем интерес сайте или мишени у пациента. В различных вариантах осуществления указанный TLR выбран из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления указанный TLR способен (i) повышать активность В-клеток и (ii) обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента. В различных вариантах осуществления пациенту вводят по меньшей мере один или более агонистов TLR. В различных вариантах осуществления выделенная модифицированная В-клетка обработана по меньшей мере одним или более агонистами TLR. В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR способен (i) повышать активность В-клеток и (ii) обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента. В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR связывается с одним или более TLR, выбранными из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR выбран из CpG-богатых олигонуклеотидов, миметиков двухцепочечной РНК, полиинозиновой кислоты:полицитидиловой кислоты (поли-I:C). В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR включает CpG-олигонуклеотиды. В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR способен (i) повышать активность В-клеток и (ii) обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента. В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR связывается с одним или более TLR,

выбранными из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций. В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR выбран из CpG-богатых олигонуклеотидов, миметиков двухцепочечной РНК, полиинозиновой кислоты:полицитидиловой кислоты (поли-I:C). В различных вариантах осуществления указанный агонист TLR включает CpG-олигонуклеотиды.

[18] В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенной модифицированной В-клетке, где указанная В-клетка подвергнута электропорации мРНК, кодирующей по меньшей мере один или более антигенов, слитых с нацеливающим сигналом. В различных вариантах осуществления указанный антиген (i) естественным образом не презентруется В-клеткой, (ii) естественным образом не презентруется В-клеткой одновременно в молекулах HLA как класса I, так и класса II или (iii) естественным образом не презентруется В-клеткой с высокой эффективностью в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В различных вариантах осуществления указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосомального белка. В различных вариантах осуществления указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосома-ассоциированного мембранного белка-1 (LAMP1). В различных вариантах осуществления указанный антиген способен нацеливаться на лизосомы и одновременно и эффективно презентироваться в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В различных вариантах осуществления указанные В-клетки способны повышать антигенспецифические иммунные ответы у пациента. В различных вариантах осуществления указанный антиген (i) естественным образом не презентруется В-клеткой, (ii) естественным образом не презентруется В-клеткой одновременно в молекулах HLA как класса I, так и класса II или (iii) естественным образом не презентруется В-клеткой с высокой эффективностью в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В различных вариантах осуществления указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосомального белка. В различных вариантах осуществления указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосома-ассоциированного мембранного белка-1 (LAMP1). В различных вариантах осуществления указанный антиген способен нацеливаться на лизосомы и одновременно и эффективно презентироваться в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В различных вариантах осуществления указанные В-клетки способны повышать антигенспецифические иммунные ответы у пациента.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[19] На ФИГ. 1 представлен пример химерного В-клеточного рецептора (CAR-V) согласно настоящему изобретению. В отдельных вариантах осуществления конструкция CAR-V будет содержать внеклеточный домен, трансмембранный домен и цитоплазматический домен. Как показано на ФИГ. 1, в отдельных вариантах осуществления внеклеточный домен может содержать связывающий домен и шарнирную

область. В отдельных вариантах осуществления связывающая область может представлять собой scFv. Конструкции CAR-B клонируют в вектор для экспрессии.

[20] На ФИГ. 2А-2С показаны примеры сконструированных В-клеток с хоминг-доменами. В различных вариантах осуществления сконструированные В-клетки могут содержать (а) связывающий домен scFv и необязательную шарнирную область; (b) связывающий домен scFv, непосредственно связанный с клеткой через трансмембранный домен, или (с) связывающий домен лиганда/рецептора, непосредственно связанный с клеткой через трансмембранный домен.

[21] На ФИГ. 3 показаны примеры некоторых конструкций CAR-B согласно настоящему изобретению. (А) CAR-B, которая связывает GPC3. (В) CAR-B, которая связывает PSMA.

[22] На ФИГ. 4 показаны примеры рецепторов CAR-B согласно настоящему изобретению, способных связывать (А) GPC3 и (В) PSMA. Домен «С» соответствует С-концу нативного BCR.

[23] На ФИГ. 5 показана экспрессия различных CAR к PSMA на поверхности клеток НЕК-293.

[24] На ФИГ. 6А-6С представлен график FACS, иллюстрирующий исследование связывания CAR к PSMA и CAR к саркогликану с PSMA. В-клетки, экспрессирующие конструкции CAR-B к PSMA pWF396 и pWF397, связывали PSMA, тогда как В-клетки, экспрессирующие pWF398 (CAR-B к саркогликану), не связывали PSMA.

[25] На ФИГ. 7 проиллюстрирована способность аденовируса F35, кодирующего GFP, трансдуцировать В-клетки человека. В-клетки человека выделяли из периферической крови. В-клетки инфицировали аденовирусом, кодирующим GFP. 0, 1, 3, 10 мкл соответствует объему в микролитрах препарата аденовируса, использованного для инфицирования В-клеток человека. Титр препаратов аденовируса составлял приблизительно 1×10^{12} частиц/мл.

[26] На ФИГ. 8 описан эксперимент, в котором мышам BALB/с с обоих боков вводили опухоли СТ26 в нулевой день. На 12 и 16 день мышам с опухолями внутритуморально инъецировали клетки, экспрессирующие полезную нагрузку, в объеме 10^6 в 50 мкл.

[27] На ФИГ. 9 проиллюстрирован эффект 12 различных комбинаций полезных нагрузок, инъецированных внутритуморально, на объем опухоли за 30-35 дней по сравнению с физиологическим раствором и клетками 3Т3 (без полезной нагрузки).

[28] На ФИГ. 10 проиллюстрирован эффект 12 различных комбинаций полезных нагрузок, инъецированных внутритуморально, на объем опухоли за 30-35 дней по сравнению с физиологическим раствором и клетками 3Т3 (без полезной нагрузки).

[29] На ФИГ. 11А-11С проиллюстрирован эффект трех наилучших комбинаций полезных нагрузок, инъецированных внутритуморально, на объем опухоли за 30 дней по сравнению с физиологическим раствором и клетками 3Т3 (без полезной нагрузки).

[30] На ФИГ. 12 иллюстрирует абскопальный эффект внутритуморальных

инъекций В-клеток. В-клетки инъецировали либо (i) свежими, либо (ii) предварительно стимулированными в течение 16-24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышинового IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством 5 мкг/мл липополисахарида. Затем 5×10^6 В-клеток внутритуморально в мышинной модели СТ26 и измеряли противоопухолевые ответы в дистальной (абскопальной) опухоли. Опухоли имплантировали в 0 день, а на 6 день наблюдали пальпируемую опухолевую массу. Лечение начинали на 6 день внутритуморально.

[31] На ФИГ. 13А-13С проиллюстрирована экспрессия трех CAR-В-рецепторов (также называемых CAR-В-рецепторами) в В-клетках мыши через 24 часа после трансфекции.

[32] На ФИГ. 14 проиллюстрирована эффективность В-клеток мыши, модифицированных PSMA-специфичным CAR, на объем опухоли и выживаемость мышей BALB/c с опухолями СТ26-PSMA.

[33] На ФИГ. 15 проиллюстрирована эффективность аллогенных В-клеток, модифицированных PSMA-специфичным CAR, на объем опухоли и выживаемость мышей BALB/c с опухолями СТ26-PSMA.

[34] На ФИГ. 16 проиллюстрирована эффективность В-клеток мыши, модифицированных PSMA-специфичным CAR, у иммунодефицитных мышей BALB/c с опухолями СТ26-PSMA.

[35] На ФИГ. 17 проиллюстрирована эффективность В-клеток мыши в отношении объема опухоли и выживаемости мышей C57B1/6 с опухолями HEPA 1-6 GPC3.

[36] На ФИГ. 18 показана передача сигналов NFkB в клетках с репортерным геном люциферазы в В-клетках, модифицированных четырьмя различными конструкциями CAR, которые распознают GPC3, с использованием GFP в качестве контроля.

[37] На ФИГ. 19 проиллюстрирована базальная или тоническую активность NFkB в отсутствие когнатного антигена-мишени в конструкциях CAR, экспрессированных в репортерной линии В-клеток человека.

[38] На ФИГ. 20 проиллюстрирована эффективность В-клеток мыши, подвергнутых электропорации мРНК с полезной нагрузкой анти-GPC3CAR-CD79a и CD80, у сингенных мышей C57B1/6 с опухолями HEPA1-6GPC3.

[39] На ФИГ. 21А-21С проиллюстрированы ответы групп В-клеток, обработанных контролем физиологическим раствором, анти-GPC3CAR-CD79a и комбинацией анти-GPC3CAR-CD79a плюс CD80.

[40] На ФИГ. 22А-22С проиллюстрирована экспрессия CAR к GPC3 после электропорации с использованием графиков FACS.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[41] Изобретение, раскрытое в настоящем документе, относится к нескольким вариантам осуществления сконструированных или модифицированных В-клеток:

1. В-клеткам, которые были модифицированы для хоминга в представляющий

интерес сайт/мишень, с использованием, например, связывающего домена, такого как scFv, антитело, лиганд, рецептор или их фрагменты;

2. В-клеткам, которые были модифицированы хоминг-доменом, дополнительно содержащим активирующий и, необязательно, костимулирующий домен, так что В-клетки могут осуществлять хоминг и активироваться при взаимодействии с желаемой мишенью;

3. В-клеткам, сконструированным таким образом, чтобы они были способны получать желаемую белковую нагрузку, такую как антитело, терапевтический белок, полипептид, последовательность нуклеиновой кислоты (такая как РНКи) и т. п.;

4. Сконструированным В-клеткам, содержащим хоминг-/связывающий домен, активирующий домен, необязательный костимулирующий домен и дополнительно сконструированным для экспрессии желаемой белковой нагрузки, такой как антитело, терапевтический белок, полипептид, последовательность нуклеиновой кислоты (такая как РНКи) и т. п.;

5. В-клеткам, которые были модифицированы для экспрессии интегрина, хоминг-антитела, белка или рецептора, так что В-клетки привлекаются к определенным лигандам, хемокинам или аттрактантам в определенном представляющем интерес сайте/мишени (например, ткани для хоминга) и, таким образом, могут осуществлять хоминг в представляющий интерес сайт/мишень, например, для доставки желаемой полезной нагрузки;

6. В-клеткам, которые были модифицированы для экспрессии иммуноингибирующей молекулы, так что воспаление и аутоиммунная активность В-клеток, локализованных в представляющем интерес сайте/мишени, снижены, что приводит к положительному терапевтическому ответу;

7. В-клеткам, которые были обработаны соединением или его производными, так что перемещение В-клеток изменено за счет экспрессии определенных интегринов В-клеток и/или хоминг-рецепторов;

8. В-клеткам, которые были (i) обработаны агонистом толл-подобного рецептора (TLR) и/или (ii) сконструированы для экспрессии конститутивно активного TLR, для повышения активности В-клеток и/или обеспечения высокоактивных эффекторных В-клеток для повышения иммунных ответов у субъекта;

9. В-клеткам, которые были подвергнуты электропорации мРНК, кодирующей определенные представляющие интерес антигены, слитые с нацеливающим сигналом лизосомального белка, так что В-клетки могут одновременно и эффективно презентировать определенные представляющие интерес антигены и/или эпитопы, происходящие от антигенов, в молекулах HLA как класса I, так и класса II.

10. В-клеткам, которые были подвергнуты электропорации самоамплифицирующейся РНК, кодирующей любые элементы, указанные ранее в пп. 1-9.

[42] Подразумевается, что различные варианты осуществления сконструированных или модифицированных В-клеток согласно настоящей заявке не являются взаимоисключающими и могут быть комбинированы друг с другом любым образом и без

каких-либо ограничений, если прямо не указано обратное, для достижения или облегчения любого из результатов и/или терапевтических ответов, рассматриваемых в настоящем документе.

[43] **Опухолевый антиген.** В отдельных вариантах осуществления представляющий интерес сайт/мишень представляет собой опухолевый антиген. Выбор антигенсвязывающего домена (фрагмента) согласно изобретению будет зависеть от конкретного типа рака, подлежащего лечению. Некоторые опухолевые антигены могут быть мембраносвязанными, тогда как другие могут быть секретированы. Например, опухолевой антиген может секретироваться и накапливаться во внеклеточном матриксе, или опухолевый антиген может экспрессироваться как часть комплекса МНС. Опухолевые антигены хорошо известны в данной области техники и могут включать, например, CD19, KRAS, HGF, CLL, глиома-ассоциированный антиген, карциноэмбриональный антиген (CEA); β -субъединицу хорионического гонадотропина человека, альфафетопротеин (AFP), лектин-реактивную фракцию AFP, тироглобулин, RAGE-1, MN-CA IX, теломеразную обратную транскриптазу человека, RU1, RU2 (AS), карбоксилэстеразу кишечника, мутацию hsp70-2, M-CSF, простазу, простатспецифический антиген (PSA), PAP, NY-ESO-1, LAGE-1a, p53, простеин, PSMA, Her2/neu, сурвивин и теломеразу, опухолевый антиген-1 карциномы простаты (PCTA-1), MAGE, ELF2M, эластазу нейтрофилов, эфрин B2, CD22, инсулиноподобный фактор роста (IGF)-I, IGF-II, рецептор IGF-I, мезотелин, EGFR, BCMA, KIT и IL-13.

[44] **Антиген инфекционного заболевания.** В отдельных вариантах осуществления представляющий интерес сайт/мишень представляет собой антиген инфекционного заболевания, против которого может быть желателен иммунный ответ. Антигены инфекционных заболеваний хорошо известны в данной области техники и могут включать, не ограничиваясь перечисленным, вирусы, бактерии, простейших и паразитарные антигены, такие как паразиты, грибы, дрожжи, микоплазму, вирусные белки, бактериальные белки и углеводы, и белки и углеводы грибов. Кроме того, тип инфекционного заболевания антигена инфекционного заболевания не ограничен каким-либо определенным образом и может включать, не ограничиваясь перечисленным, фармакорезистентные заболевания, относящиеся к группе вирусных инфекционных заболеваний, такие как СПИД, гепатит В, инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр (EBV), инфекция ВПЧ (вирус папилломы человека), инфекция HCV, SARS, SARS-CoV2 и т. д. Паразитарные антигены могут включать, не ограничиваясь перечисленным, белок малярийного паразита на стадии спорозоита.

[45] В отдельных вариантах осуществления модифицированные В-клетки экспрессируют сконструированный В-клеточный рецептор (CAR-B), содержащий внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен. В отдельных вариантах осуществления внеклеточный домен содержит связывающий домен и шарнирный домен. В отдельных вариантах осуществления внеклеточный домен содержит связывающий домен, такой как scFv, лиганд, антитело, рецептор или их фрагмент,

который позволяет модифицированной В-клетке нацеливаться на определенные клетки-мишени путем связывания с белками, экспрессируемыми на поверхности этих клеток. В отдельных вариантах осуществления модифицированные опухолевые клетки нацелены на белки/антигены, экспрессируемые на поверхности опухолевых клеток, и связываются с ними. В отдельных вариантах осуществления модифицированная В-клетка дополнительно экспрессирует полезную нагрузку. В отдельных вариантах осуществления полезная нагрузка способна увеличивать количество перекрестно-презентируемых дендритными клетками (ДК) антигенов или антигенных фрагментов в опухолях или в лимфатических узлах. В отдельных вариантах осуществления полезная нагрузка способна активировать Т-клетки и привлекать их в опухоли. В отдельных вариантах осуществления полезная нагрузка способна стимулировать образование третичных лимфоидных структур (TLS) в опухолях. В отдельных вариантах осуществления изобретения модифицированная В-клетка экспрессирует как CAR-B, так и полезную нагрузку. В отдельных вариантах осуществления CAR-B содержит стимулирующие домены, которые активируют экспрессию полезной нагрузки при связывании с антигеном или белком, экспрессируемым на поверхности опухолевой клетки.

1. Конструирование и ориентация доменов химерных антигенных рецепторов в В-клетках (CAR-B)

[46] В различных вариантах осуществления изобретение относится к химерному В-клеточному рецептору (CAR-B). Следует принимать во внимание, что химерные В-клеточные рецепторы (CAR-B) представляют собой рецепторы, полученные с помощью генной инженерии. Эти сконструированные рецепторы могут быть легко вставлены и экспрессированы В-клетками в соответствии с методами, известными в данной области техники. С помощью CAR-B один рецептор может быть запрограммирован на распознавание определенного белка или антигена, экспрессируемого на опухолевой клетке, и при связывании с указанным белком или антигеном вызывать противоопухолевый ответ. В различных вариантах осуществления CAR-B частично служат механизмом хоминга для доставки В-клеток в ткань-мишень.

[47] Следует принимать во внимание, что относительно клетки, несущей рецептор, химерный В-клеточный рецептор согласно изобретению будет содержать внеклеточный домен (который будет содержать антигенсвязывающий домен и может содержать внеклеточный сигнальный домен и/или шарнирный домен), трансмембранный домен и внутриклеточный домен. Внутриклеточный домен содержит по меньшей мере активирующий домен, предпочтительно состоящий из CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, CD3 ζ Fc γ 2a и/или MyD88. Кроме того, следует принимать во внимание, что антигенсвязывающий домен сконструирован таким образом, что он расположен во внеклеточной части молекулы/конструкции, так что он способен распознавать свою мишень или мишени и связываться с ними.

[48] Понятно, что структурно эти домены соответствуют положениям относительно иммунной клетки. Иллюстративные конструкции CAR-B согласно

изобретению представлены в таблице 1:

ТАБЛИЦА 1

Название конструкции	Внеклеточный домен	Шарнир	ТМ	Сигнальный 1	Сигнальный 2
pWF-82	анти-PSMA	CD8	CD28	hCD19	
pWF-83	анти-PSMA	CD8	CD28	hCD40	
pWF-84	анти-PSMA	CD8	CD28	hCD40	CD79b
pWF-85	анти-PSMA	CD8	CD28	hCD40	CD137
pWF-86	анти-PSMA	CD8	CD28	hCD40	Fcγr2a
pWF-87	анти-PSMA	CD8	CD28	hMyd88	hCD40
pWF-88	анти-PSMA	CD8	CD28	CD79a	
pWF-89	анти-PSMA	CD8	CD28	CD79b	
pWF-391	анти-PSMA	3x strep II-метка	CD28	CD79b	
pWF-394	анти-саркогликан	3x strep II-метка	CD28	CD79b	
pWF-396	анти-GPC-3	CD8	CD28	CD79a	
pWF-397	анти-GPC-3	CD8	CD28	CD79b	
pWF-460	анти-GPC-3	Fc IgG1 человека	CD28	CD79a	
pWF428	анти-GPC-3	Константная область лямбда человека	Константная область лямбда человека		
pWF429	анти-GPC-3	Fc IgG1 человека	Fc IgG1 человека		
pWF-521	Анти-GPC3 vL-константная область лямбда человека-линкер-vH-hcH1-cH2-cH3	Fc IgG1 человека	IgG1 человека	Эндогенный комплекс BCR	
pWF-533	Анти-GPC3-vL-hcH1		IgG1 человека (комплекс с pWF534)	Эндогенный комплекс BCR	
pWF-534	Анти-GPC3-vH-	Fc IgG1 человека	IgG1	Эндогенный	

	константная область каппа человека-hcH2- сH3		человека	комплекс BCR	
--	---	--	----------	-----------------	--

[49] В различных вариантах осуществления химерные В-клеточные рецепторы состоят из внеклеточного домена, трансмембранного домена и цитоплазматического домена. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен содержит активирующий домен. В различных вариантах осуществления цитоплазматический домен может также содержать костимулирующий домен. В различных вариантах осуществления внеклеточный домен содержит антигенсвязывающий домен. В различных вариантах внеклеточный домен дополнительно содержит шарнирную область между антигенсвязывающим доменом и трансмембранным доменом. На ФИГ. 1 схематически изображен химерный В-клеточный рецептор согласно различным вариантам осуществления настоящего изобретения.

[50] **Внеклеточный домен.** В настоящем изобретении может быть использован ряд внеклеточных доменов. В различных вариантах осуществления внеклеточный домен содержит антигенсвязывающий домен. В различных вариантах внеклеточный домен может также содержать шарнирную область и/или сигнальный домен. В различных вариантах осуществления внеклеточные домены, содержащие константный домен IgG1, могут также содержать либо IgG1 (впадина), либо IgG1 (выступ) для облегчения направленного образования CAR-B.

[51] **Антигенсвязывающий домен и связывающий домен.** В контексте настоящего документа «антигенсвязывающий домен», «антиген-связывающий домен» или «связывающий домен» относится к части CAR-B, способной связывать антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с антигеном или белком на клетке, пораженной гиперпролиферативным заболеванием. В предпочтительных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с антигеном или белком, экспрессируемым на поверхности опухолевой клетки. Антигенсвязывающие молекулы будут дополнительно пояснены с учетом приведенных ниже определений и описаний.

[52] Говорят, что антигенсвязывающий домен «специфично связывает» свой антиген или белок-мишень, когда константа диссоциации (K_d) составляет 1×10^{-7} М. Антигенсвязывающий домен специфично связывает антиген с «высокой аффинностью», когда K_d составляет $1-5 \times 10^{-9}$ М, и с «очень высокой аффинностью», когда K_d составляет $1-5 \times 10^{-10}$ М. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен имеет K_d 10^{-9} М. В одном варианте скорость диссоциации составляет $<1 \times 10^{-5}$. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий домен будет связываться с антигеном или белком с K_d приблизительно от 10^{-7} М до 10^{-13} М, а в еще одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен будет связываться с K_d $1,0-5,0 \times 10^{-10}$.

[53] Говорят, что антигенсвязывающий домен является «селективным», когда он связывается с одной мишенью более прочно, чем со второй мишенью.

[54] Термин «нейтрализующий» относится к антигенсвязывающему домену, который связывается с лигандом и предотвращает или снижает биологический эффект этого лиганда. Это может быть осуществлено, например, путем прямого блокирования сайта связывания на лиганде или путем связывания с лигандом и изменения способности лиганда к связыванию косвенными средствами (такими как структурные или энергетические изменения в лиганде). В некоторых вариантах осуществления данный термин может также обозначать антигенсвязывающий домен, который препятствует выполнению биологической функции белком, с которым он связан.

[55] Термин «мишень» или «антиген» относится к молекуле или части молекулы, способной связываться с антигенсвязывающей молекулой. В отдельных вариантах осуществления мишень может иметь один или более эпитопов.

[56] Термин «антитело» относится к так называемым иммуноглобулинам, Y-образным белкам, которые вырабатываются иммунной системой для распознавания определенного антигена. Термин «фрагмент антитела» относится к антигенсвязывающим фрагментам и Fc-фрагментам антител. Типы антигенсвязывающих фрагментов включают: молекулы F(ab')₂, Fab, Fab' и scFv. Фрагменты Fc полностью образованы из константной области тяжелой цепи иммуноглобулина.

[57] **Внеклеточные сигнальные домены.** Внеклеточный домен полезен для передачи сигналов и эффективного ответа лимфоцитов на антиген. Внеклеточные домены, особенно подходящие для данного изобретения, могут происходить из (т. е. содержать) CD28, CD28T (см., например, заявку на патент США US2017/0283500A1), OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, программируемой смерти-1 (PD-1), индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS), ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), DAP-10, рецептора Fc-гамма, молекулы MHC класса 1, белков TNF-рецепторов, белка иммуноглобулина, рецептора цитокинов, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов NK-клеток, BTLA, толл-подобного рецептора, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, который специфично связывается с CD83, или любой их комбинации. Внеклеточный

домен может происходить либо из природного, либо из синтетического источника.

[58] **Шарнирные домены.** Как описано в настоящем документе, внеклеточные домены часто содержат шарнирную часть. Она представляет собой часть внеклеточного домена, проксимальную к клеточной мембране. Внеклеточный домен может дополнительно содержать спейсерную область. В соответствии с изобретением можно использовать различные шарниры, включая костимулирующие молекулы, как обсуждалось выше, а также последовательности иммуноглобулина (Ig), спейсер 3X Strep II или другие подходящие молекулы для достижения желаемого пространственного расстояния от клетки-мишени. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит внеклеточный домен CD28 или CD8 или его часть, как описано в настоящем документе.

[59] **Трансмембранные домены.** CAR-B может быть сконструирован таким образом, чтобы он содержал трансмембранный домен, слитый или иным образом связанный с внеклеточным доменом CAR-B-B. Аналогичным образом он может быть слит с внутриклеточным доменом CAR-B. В одном варианте осуществления используется трансмембранный домен, который естественным образом связан с одним из доменов в CAR-B. В некоторых случаях трансмембранный домен может быть выбран или модифицирован путем аминокислотной замены, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами того же или других поверхностных мембранных белков, чтобы свести к минимуму взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса. Трансмембранный домен может происходить либо из природного, либо из синтетического источника. Если источник является природным, домен может происходить из любого мембраносвязанного или трансмембранного белка. Трансмембранные области, особенно подходящие для данного изобретения, могут происходить из (т. е. содержать) CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, программируемой смерти-1 (PD-1), индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS), ассоциированного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), DAP-10, рецептора Fc-гамма, молекулы МНС класса I, белков TNF-рецепторов, белка иммуноглобулина, рецептора цитокинов, интегринов, сигнальных молекул активации лимфоцитов (белков SLAM), активирующих рецепторов NK-клеток, BTLA, толл-подобного рецептора, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 la, LFA-1, ITGAM, CD1 lb, ITGAX, CD1 lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT,

GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда, который специфично связывается с CD83, или любой их комбинации.

[60] Необязательно, короткие линкеры могут образовывать связи между любым или некоторыми из внеклеточного, трансмембранного и внутриклеточного доменов CAR-B.

[61] В отдельных вариантах осуществления трансмембранный домен в CAR-B согласно изобретению представляет собой трансмембранный домен CD28. В одном варианте осуществления трансмембранный домен CD28 содержит последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 1. В одном варианте осуществления трансмембранный домен CD28 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. В одном варианте осуществления трансмембранный домен CD28 содержит последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 3. В еще одном варианте осуществления трансмембранный домен CD28 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

[62] В одном варианте осуществления трансмембранный домен в CAR-B согласно изобретению представляет собой трансмембранный домен CD8.

[63] **Внутриклеточные (цитоплазматические) домены.** Внутриклеточный (IC или цитоплазматический) домен рецепторов CAR-B согласно изобретению может обеспечивать активацию по меньшей мере одной из нормальных эффекторных функций иммунной клетки.

[64] Следует принимать во внимание, что подходящие внутриклеточные молекулы включают, не ограничиваясь перечисленным, CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a CD3 ζ и MyD88. Внутриклеточные молекулы могут дополнительно включать CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, программируемую смерть-1 (PD-1), индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS), ассоциированный с функцией лимфоцитов антиген-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эпсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, рецептор Fc-гамма, молекулу MHC класса I, белки TNF-рецепторов, белок иммуноглобулина, рецептор цитокинов, интегрины, сигнальные молекулы активации лимфоцитов (белки SLAM), активирующие рецепторы NK-клеток, BTLA, толл-подобный рецептор, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 1a, LFA-1, ITGAM, CD1 1b, ITGAX, CD1 1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/ RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганд, который специфично связывается с CD83, или любую их комбинацию.

Цитоплазматические сигнальные последовательности внутри цитоплазматической сигнальной части CAR-B согласно изобретению могут быть связаны друг с другом в случайном или заданном порядке.

[65] Термин «костимулирующий» домен или молекула в контексте настоящего документа относится к гетерогенной группе молекул клеточной поверхности, которые усиливают или противодействуют исходным активирующим сигналам клетки.

[66] В одном предпочтительном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD19, где домен hCD19 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 5. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD40, где домен hCD40 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 7. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD40 и hCD79b, где домен hCD40 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 7, и домен hCD79b содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 25. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD40 и hCD137, где домен hCD40 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 7, и домен hCD137 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 13. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD40 и hFcγ2a, где домен hCD40 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 7, и домен hFcγ2a содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 17. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD40 и hMyd88, где домен hCD40 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 7, и домен hMyd88 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 21. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD79a, где домен hCD79a содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 23. В еще одном варианте осуществления цитоплазматический домен сконструирован таким образом, чтобы он содержал сигнальный домен hCD79b, где домен hCD79b содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 25. Эти варианты осуществления предпочтительно имеют человеческое происхождение, но могут происходить и от других видов. В различных вариантах осуществления сигнальный домен содержит hCD79a в тандеме с hCD79b или другим доменом hCD79a. В различных вариантах осуществления сигнальный домен содержит hCD79b в тандеме с hCD79a или другим доменом hCD79b.

2. Модифицированные В-клетки

[67] **Модифицированные В-клетки, которые экспрессируют полезные нагрузки.** В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, способная экспрессировать полезную нагрузку. В контексте настоящего документа термин «полезная нагрузка» относится к аминокислотной последовательности, последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей пептид или белок, или молекуле РНК для применения в качестве терапевтического агента. В отдельных вариантах осуществления полезная нагрузка предназначена для доставки в опухоль или микроокружение опухоли или в дренирующий лимфатический узел. В отдельных вариантах осуществления желательно, чтобы В-клетка доставляла в опухоль или микроокружение опухоли или в дренирующий лимфатический узел полезную нагрузку, способную, например, увеличивать количество перекрестно презентующих дендритных клеток (ДК) в опухолях. Перекрестно презентующие ДК позволяют улучшить презентацию опухолевых антигенов. В различных вариантах осуществления полезная нагрузка может быть способна активировать Т-клетки и привлекать их в опухоли. Активация большего количества Т-клеток в опухолях дополнит перекрестно презентующие ДК, чтобы изменить среду опухоли, чтобы она обладала более мощными противоопухолевыми иммунными способностями. Полезные нагрузки также способны способствовать образованию третичных лимфоидных структур (TLS) в опухолях. Клинические исследования показали, что существует взаимосвязь между В-клетками, TLS и ответами на блокаду иммунных контрольных точек.

[68] Неисключительные примеры полезных нагрузок согласно настоящему изобретению включают: IL-1, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, IL-21, интерферон α , интерферон β , интерферон γ , TSLP, CCL21, FLT3L, XCL1, LIGHT(TNFSF14), OX40L, CD137L, CD40L, ICOSL, антитело к CD3, CD47, TIM4-FC, CXCL13, CCL21, CD80, CD40L, IFN α A2, LIGHT, 4-1BBL, MDGF (C19orf10), FGF10, PDGF, агрин, TNF- α , GM-CSF, антитело к FAP, антитело к TGF- β ; ловушку, приманку или другую молекулу, ингибирующую TGF- β ; антитело к BMP; ловушку, приманку или другую молекулу, ингибирующую BMP.

[69] **Передача сигналов для экспрессии полезной нагрузки.** В различных вариантах осуществления настоящего изобретения полезная нагрузка экспрессируется в модифицированной В-клетке в виде конструкции ДНК под контролем активированного пути транскрипции. В отдельных вариантах осуществления экспрессия полезной нагрузки контролируется путем ядерного фактора активированных Т-клеток («NFAT»). Путь NFAT представляет собой путь фактора транскрипции, активируемый во время иммунного ответа и активируемый NF κ B. В различных вариантах осуществления модифицированная В-клетка экспрессирует как полезную нагрузку, так и CAR-B. В различных вариантах осуществления, где модифицированная В-клетка экспрессирует как полезную нагрузку, так и CAR-B, CAR-B может дополнительно кодировать сигнальные молекулы, которые индуцируют активацию пути NF κ B. Такие молекулы включают, не ограничиваясь

перечисленным: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a CD3 ζ и MyD88.

[70] В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенным В-клеткам, которые экспрессируют по меньшей мере одну полезную нагрузку. В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенным В-клеткам, которые экспрессируют более одной полезной нагрузки. В различных вариантах осуществления изобретение относится к выделенным В-клеткам, которые экспрессируют 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 различных полезных нагрузок.

[71] **Модификация В-клеток для хоминга.** В различных вариантах осуществления настоящего изобретения сконструированные В-клетки могут быть модифицированы хоминг-доменами (например, как показано на ФИГ. 2), так что В-клетки могут осуществлять хоминг в представляющий интерес сайт/мишень и активироваться при взаимодействии с мишенью. Кроме того, хоминг-рецепторы В-клеток, экспрессируемые на мембранах В-клеток, которые распознают адрессины и лиганды на тканях-мишенях, соединения или их производные, которые изменяют перемещение В-клеток к определенному сайту, а также молекулы, ингибирующие воспаление и аутоиммунную активность В-клеток, могут играть роль в хоминге В-клеток и развитии специализированных иммунных ответов.

[72] **Модифицированные В-клетки, которые экспрессируют представляющий интерес интегрин.** Основными хоминг-рецепторами, экспрессируемыми лимфоцитами, являются интегрины, которые представляют собой большой класс молекул, характеризующихся гетеродимерной структурой α - и β -цепей. В общем, спаривание специфических α - и β цепей интегрин определяет тип хоминг-рецептора. Например, спаривание цепи $\alpha 4$ с цепью $\beta 7$ характеризует основную молекулу интегрин ($\alpha 4\beta 7$), ответственную за связывание лимфоцитов с молекулой адгезии-1 типа адрессин слизистых оболочек (MAdCAM-1), экспрессируемой в наружных эндотелиальных венах (HEV) в пейеровых бляшках (ПБ) и эндотелиальных венах собственной пластинки желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Аналогичным образом, спаривание цепи $\alpha 4$ с цепью $\beta 1$ характеризует хоминг-рецептор ($\alpha 4\beta 1$) для кожи.

[73] В различных вариантах осуществления настоящего изобретения В-клетка, подлежащая модификации, может быть выбрана заранее с определенными признаками, которые опосредуют предпочтительные локализации. Например, может быть осуществлено обогащение, а затем генетическая модификация В-клеток памяти, экспрессирующих CXCR3. Клетки CXCR3 могут быть привлечены к лигандам, экспрессируемым в очагах воспаления. Как таковые, модифицированные В-клетки могут предпочтительно локализоваться в таких сайтах.

[74] В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, которая экспрессирует цепи $\alpha 4$ и $\beta 7$ интегрин. Желательно, чтобы экспрессия интегрин $\alpha 4\beta 7$ способствовала хомингу модифицированных В-клеток в толстую кишку. В различных вариантах осуществления предложена модифицированная

В-клетка, которая экспрессирует цепи $\alpha 4$ и $\beta 1$ интегрин. Желательно, чтобы экспрессия интегрин $\alpha 4\beta 1$ способствовала хомингу модифицированных В-клеток в кожу. В различных вариантах осуществления предложена модифицированная В-клетка, которая экспрессирует α - и β -цепи интегрин, спаренные желаемым образом, так что экспрессируемый интегрин способствует хомингу модифицированной В-клетки в желаемый представляющий интерес сайт/мишень. Соответственно, в различных вариантах осуществления для экспрессии в В-клетках предусмотрена любая желаемая комбинация α - и β цепей интегрин, так что модифицированные В-клетки, экспрессирующие определенный интегрин, нацелены на желаемый представляющий интерес сайт/мишень.

[75] **Модифицированные В-клетки, которые экспрессируют представляющие интерес хоминг-рецепторы.** В-клетки обладают способностью осуществлять хоминг в воспалительные ткани, и изменение экспрессии их хоминг-рецепторов может дополнять их нативные тенденции к хомингу. Локализация В-клеток также определяется экспрессией молекул-аттрактантов (например, мишеней, таких как лиганды и хемокины) в очагах воспаления в определенных местах или тканях. Такие молекулы также могут включать антитела, такие как антитело MECA79, которое нацеливает клетки на адрессин периферических узлов (PNAd). Bahmani et al., J Clin Invest. 2018;128(11):4770-4786; Azzi et al., Cell Rep. 2016;15(6):1202-13. Соответственно, В-клетки могут быть сконструированы для экспрессии определенных антител, белков и рецепторов, которые облегчают хоминг В-клеток в представляющий интерес сайт/мишень и взаимодействие таких В-клеток с желаемой мишенью. В некоторых случаях экспрессия таких рецепторов перенаправляет В-клетки в представляющую интерес ткань.

[76] В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, способная экспрессировать хоминг-антитело, белок или рецептор, экспрессия которых способна направлять В-клетку в определенный представляющий интерес сайт/мишень. Примеры хоминга Т-клеток в определенные ткани для хоминга (ткани-мишени) с помощью определенных пар хоминг-рецептор/лиганд приведены в таблице 2. Те же самые определенные пары хоминг-рецептор/лиганд также способны облегчать хоминг В-клеток в определенную ткань для хоминга (ткань-мишень). Соответственно, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения хоминг модифицированных В-клеток в иллюстративную ткань для хоминга (ткань-мишень) облегчается с помощью соответствующих пар хоминг-рецептор/лиганд, приведенных в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2

Хоминг-рецепторы клеток T_{eff} и их когнатные лиганды, опосредующие органотропное нацеливание		
Тип ткани для хоминга	Хоминг-рецептор клеток T_{eff}	Когнатный лиганд

Кожа	CLA (гликоформа PSGL-1)	Е/Р-селектин
	CD43E	Е-селектин
	VLA-4 ($\alpha_4\beta_1$)	VCAM-1
	LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$)	ICAM-1
	CCR4	CCL17
	CCR10	CCL27
Кишечник (кишечный тракт, толстая кишка, БЛУ, ПБ)	$\alpha_4\beta_7$	MAdCAM-1
	CCR9 ^a	CCL25 ^a
	CXCR4	CXCL12
	Лиганды селектина ^b	Е/Р-селектин ^b
	VLA-4 ^b	VCAM-1 ^b
	LFA-1 ^b	ICAM-1 ^b
	CCR6 ^b	CCL20 (MIP-3 α) ^b
Печень	CD44	Гиалуронат
	VLA-4	VCAM-1
	CCR5	CCL5
		VAP-1
	Лиганды селектина ^b	Е/Р-селектин
	$\alpha_4\beta_7$ ^b	MAdCAM-1 ^b
Легкое	LFA-1	ICAM-1
	CCR3	CCL28
	CCR4	CCL17
	CXCR4	CXCL12
	Лиганды селектина ^b	Е/Р-селектин ^b

	VLA-4 ^b	VCAM-1 ^b
	LFA-1 ^b	ICAM-1 ^b
Костный мозг	CLA (гликоформа PSGL-1)	E/P-селектин
	CD43E	E-селектин
	VLA-4	VCAM-1
	LFA-1	ICAM-1
	CXCR4	CXCL12
	$\alpha_4\beta_7$ ^b	MAdCAM-1 ^b
Сердце	CCR5	CCL4, CCL5
	CCR4	?
	CXCR3	CXCL10
	c-Met	HGF
Головной мозг	VLA-4 ^b	VCAM-1 ^b
	LFA-1 ^b	ICAM-1 ^b
	CXCR3 ^b	CXCL9/CXCL10 ^b
Периферический ЛУ^c	Лиганды селектина ^b	E/P-селектин ^b
	LFA-1 ^b	ICAM-1 ^b
	CXCR3 ^b	CXCL9/CXCL10 ^b
Участвует в хоминке клеток T_{eff} в кишечный тракт, но не в толстую кишку. Воспалительные реакции, повреждение ткани. В невоспаленных, стационарных условиях клетки T_{eff} обычно утрачивают экспрессию L-селектина и CCR7 и в значительной степени ограничены в доступе к ЛУ, хотя могут проникать во время воспалительных реакций (b), как показано. Напротив, как наивные T-клетки, так и клетки T_{cm} экспрессируют L-селектин, CCR7 и CXCR4 и вовлекают PNA^d, CCL19/CCL21 и CXCL12, соответственно, в роллинг T-клеток и LFA-1/ICAM-1/2-опосредованную адгезию и трансмиграцию в ЛУ.		

[77] Иллюстративные типы ткани для хоминга (ткани-мишени) и лиганда или хемокина, которые обеспечивают хоминг В-клеток, ограниченный тканью, согласно изобретению, приведены в таблице 3.

ТАБЛИЦА 3

Тип ткани для хоминга	Лиганд/Хемокины
ЦНС	VCAM-1, CD62P, лиганды для CCR1,2, 5, CXCR3
Печень	CD62P, VAP-1, CXCL16
Тонкая кишка	MAdCAM, CD62P, CCL25
Толстая кишка	MAdCAM, CD62P, CCL20, GPR15L
Кожа	CD62E, CD62P, CCL17(22), ICAM-1
Вилочковая железа	VCAM, CD62P, CCL25
Периферический лимфатический узел	PNA _d , CCL21, ICAM-1
Пейерова бляшка	MAdCAM, CCL21, CXCL13
Костный мозг	VCAM, CD62P, CXCL12, ICAM-1

[78] В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, которая экспрессирует одно или более антител, белков или рецепторов, которые облегчают хоминг модифицированной В-клетки в иллюстративные ткани-мишени/ткани для хоминга с помощью определенных пар хоминг-рецептора/лиганда, приведенных в таблице 2. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, которая экспрессирует один или более хоминг-рецепторов, которые облегчают хоминг модифицированной В-клетки в иллюстративную ткань-мишень/ткань для хоминга с помощью лиганда или хемокинов, приведенных в таблицах 2 и/или 3. В контексте настоящего документа термин «хоминг В-клеток» относится к локализации, нацеливанию, доставке, перемещению или перенаправлению В-клеток согласно настоящему изобретению в представляющий интерес сайт/мишень, например, в ткань для хоминга или ткань-мишень, очаг воспаления в определенном месте или ткани, или опухоль или микроокружении опухоли, где желательна доставка терапевтических полезных нагрузок. В контексте хоминга В-клеток термин «антитело», «белок» или «рецептор» относится к аминокислотной последовательности, последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей пептид или белок, или молекуле РНК для применения в качестве терапевтического средства, которое при экспрессии в модифицированной В-клетке согласно настоящему изобретению будет направлять В-клетку к представляющему интерес сайту/мишени.

[79] В отдельных вариантах осуществления молекула хоминг-антитела, белка или рецептора предназначена для хоминга/нацеливания модифицированной В-клетки, экспрессирующей такую молекулу, на представляющий интерес сайт/мишень. В отдельных вариантах осуществления молекула хоминг-антитела, белка или рецептора предназначена для хоминга/нацеливания модифицированной В-клетки, экспрессирующей такую молекулу, на очаги воспаления в определенных местах или тканях. В отдельных вариантах осуществления хоминг-антитело, белок или рецептор предназначены для

нацеливания В-клетки на опухоль или микроокружение опухоли и на дренирующий опухоль лимфатический узел. В отдельных вариантах осуществления желательно нацеливание В-клеток на определенные места, чтобы сконструированные или модифицированные В-клетки согласно настоящему изобретению могли доставлять терапевтические полезные нагрузки в нужные представляющие интерес места, например, в ткань для хоминга или ткань-мишень, очаг воспаления в определенном месте или ткани, или опухоль или микроокружение опухоли. Соответственно, в отдельных вариантах осуществления желательно, чтобы В-клетки осуществляли хоминг в представляющий интерес сайт/мишень, например, опухоль или микроокружение опухоли и дренирующий опухоль лимфатический узел, и доставляли в указанный представляющий интерес сайт/мишень полезную нагрузку, способную, например, увеличивать количество перекрестно презентующих дендритных клеток (ДК) в представляющем интерес сайте/мишени (например, в опухолях).

[80] В различных вариантах осуществления хоминг-антитело, белок или рецептор экспрессируется в модифицированной или сконструированной В-клетке в виде конструкции ДНК. В различных вариантах осуществления хоминг-антитело, белок или рецептор экспрессируется в модифицированной В-клетке в виде конструкции ДНК под контролем конститутивно активированного пути транскрипции. В различных вариантах осуществления хоминг-антитело, белок или рецептор, участвующие в хоминге В-клеток, либо естественным образом не экспрессируются в В-клетке, либо экспрессируются на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке. Иллюстративный хоминг модифицированных В-клеток в определенные ткани для хоминга/ткани-мишени с помощью определенных пар хоминг-рецептор/лиганд в соответствии с настоящим изобретением приведен в таблице 4. Следует понимать, что, несмотря на иллюстративные ткани для хоминга и пары хоминг-рецепторов и лигандов, приведенные в таблице 4, модифицированная В-клетка согласно настоящему изобретению может быть сконструирована для экспрессии любого хоминг-антитела, белка или рецептора (например, любого хоминг-рецептора, приведенного в таблице 2), так что модифицированная В-клетка может быть направлена на определенный представляющий интерес сайт/мишень.

ТАБЛИЦА 4

Тип ткани для хоминга	Хоминг-рецептор	Лиганд/Хемокин
Печень	CXCR6	CXCL16
Тонкая кишка	CCR9	CCL25
Толстая кишка	CCR6	CCL20
Лимфатический узел	CCR7	CCL21
Костный мозг	CXCR4	CXCL12
Пейерова бляшка	CCR7 и CXCR5	CCL21 и CXCL13, соответственно

Кожа	CCR4	CCL17(22)
------	------	-----------

[81] Неисключительные примеры типов тканей для хоминга (тканей-мишеней) для определенных пар хоминг-рецепторов/лигандов согласно настоящему изобретению включают: кожу, кишечник (кишечный тракт, толстую кишку, брыжеечные лимфатические узлы (БЛУ), пейерову бляшку (ПБ), тонкую кишку), печень, легкое, костный мозг, сердце, периферический лимфатический узел (ЛУ), ЦНС (центральная нервная система), вилочковую железу и костный мозг.

[82] Неисключительные примеры хоминг-рецепторов, которые могут образовать пару с определенными или соответствующими аттрактантами/лигандами/хемокинами согласно настоящему изобретению, включают: CLA (гликоформа PSGL-1), CLA (гликоформа PSGL-1), CCR10, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR9, CD43E, CD44, c-Met, CXCR3, CXCR4, LFA-1, LFA-1 ($\alpha\text{L}\beta\text{2}$), лиганды селектина, VLA-4, VLA-4 ($\alpha\text{4}\beta\text{1}$) и $\alpha\text{4}\beta\text{7}$.

[83] Неисключительные примеры лигандов/хемокинов, которые могут образовать пару с определенными или соответствующими хоминг-рецепторами согласно настоящему изобретению, включают: CXCL16, CCL17, CCL17(22), CCL20 (MIP-3 α), CCL21, CCL25, CCL27, CCL28, CCL4, CCL5, CD62E, CD62P, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CXCL9/CXCL10, CXCR3, E/P-селектин, E-селектин, GPR15L, HGF, гиалуронат, ICAM-1, лиганды для CCR1, 2, 5, MAdCAM, MAdCAM-1, PNA d , VAP-1, VCAM и VCAM-1.

[84] В отдельных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, которая экспрессирует или обладает повышенной экспрессией иллюстративных В-клеточных хоминг-рецепторов (например, приведенных в таблице 2), так что модифицированная В-клетка нацелена на соответствующую представляющую интерес ткань для хоминга, которая экспрессирует соответствующий лиганд/хемокины (например, приведенный в таблицах 2 и/или 3). В отдельных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, коэкспрессирующая интегрин с определенной парой α - и β -цепей и определенным В-клеточным хоминг-рецептором (например, приведенным в таблицах 2 и/или 3), чья экспрессия интегрина и/или хоминг-рецептора способствует или облегчает хоминг/нацеливание модифицированной В-клетки на представляющий интерес сайт/мишень. В некоторых вариантах осуществления предложена модифицированная В-клетка, коэкспрессирующая интегрин $\alpha\text{4}\beta\text{7}$ и CCR9. Желательно, чтобы коэкспрессия $\alpha\text{4}\beta\text{7}$ и CCR9 способствовала хомингу модифицированных В-клеток согласно настоящему изобретению в тонкую кишку. В некоторых вариантах осуществления предложена модифицированная В-клетка, коэкспрессирующая интегрин $\alpha\text{4}\beta\text{1}$ и CCR4. Желательно, чтобы коэкспрессия $\alpha\text{4}\beta\text{1}$ и CCR4 способствовала хомингу модифицированных В-клеток согласно настоящему изобретению в тонкую кишку.

[85] **Модифицированные В-клетки, которые экспрессируют иммуноингибирующие молекулы.** В-клетки играют ключевую роль во многих аутоиммунных заболеваниях. Однако В-клетки могут быть использованы в терапевтических целях для противодействия аутоиммунитету. В частности, В-клетки

могут быть сконструированы для экспрессии по меньшей мере одной или более иммуноингибирующих молекул, что может снижать аутоиммунную активность В-клеток, приводя к уменьшению аутоиммунного заболевания. Иммуноингибирующие молекулы хорошо известны в данной области техники. Такие ингибирующие молекулы могут включать, не ограничиваясь перечисленным, IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3. В отдельных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, сконструированная для экспрессии по меньшей мере одной или более ингибирующих молекул, выбранных из IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или любых их комбинаций, так что воспаление в сайте и аутоиммунная активность В-клеток, локализованных в сайте, снижаются, что приводит к положительному терапевтическому ответу.

[86] **Соединения, изменяющие перемещение В-клеток.** В отдельных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, обработанная по меньшей мере одним или более соединениями или их производными, которые изменяют перемещение В-клеток путем индукции экспрессии определенного В-клеточного интегрина и/или хоминг-рецептора. Соединения или их производные, которые изменяют перемещение В-клеток, хорошо известны в данной области техники. В отдельных вариантах осуществления предложена модифицированная В-клетка, обработанная полностью транс-ретиноевой кислотой (ПТРК) или ее производными, которые способствуют хомингу В-клеток в кишечник (тонкий кишечник) благодаря повышенной экспрессии интегрина $\alpha 4\beta 7$ и хоминг-рецептору CCR9. В контексте настоящего документа термин «соединение» относится к химическому веществу, лекарственному средству, терапевтическому средству или их производным, которые изменяют перемещение В-клеток желаемым образом.

[87] В различных вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированную В-клетку, сконструированную для коэкспрессии определенного интегрина (например, с определенными парами α - и β цепей) и определенного представляющего интерес В-клеточного хоминг-рецептора, обрабатывают по меньшей мере одним или более соединениями или их производными, которые изменяют перенос перемещение В-клеток и способствуют хомингу клеток в определенный представляющий интерес сайт/мишень благодаря повышенной экспрессии указанного определенного интегрина и/или хоминг-рецептора. В различных вариантах осуществления В-клетка, модифицированная для коэкспрессии интегрина с определенными парами α - и β -цепей и определенного В-клеточного хоминг-рецептора, дополнительно экспрессирует по меньшей мере одну или более иммуноингибирующих молекул, так что аутоиммунная активность модифицированных В-клеток, нацеленная на определенный очаг воспаления, снижается, что приводит к уменьшению аутоиммунного заболевания. В некоторых вариантах осуществления модифицированную В-клетку, сконструированную для экспрессии одной или более иммуноингибирующих молекул, например, IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или их комбинаций, обрабатывают ПТРК или ее производными

в течение определенного периода времени, так что индуцируется экспрессия интегрина $\alpha 4\beta 7$ и хоминг-рецептора CCR9 для способствования хомингу В-клеток в определенный представляющий интерес сайт/мишень (например, кишечник), но воспаление в указанном сайте и аутоиммунная активность В-клеток, локализованных в указанном сайте, снижаются, что приводит к положительному терапевтическому ответу. В одном варианте осуществления модифицированную В-клетку, сконструированную для экспрессии одной или более иммуноингибирующих молекул, например, IL-10, TGF- β или их комбинаций, обрабатывают ПТРК или ее производными в течение определенного периода времени, так что индуцируется экспрессия интегрина $\alpha 4\beta 7$ и хоминг-рецептора CCR9 для способствования хомингу В-клеток в определенный представляющий интерес сайт/мишень (например, кишечник), но воспаление в указанном сайте и аутоиммунная активность В-клеток, локализованных в указанном сайте, снижаются, что приводит к положительному терапевтическому ответу.

[88] Подразумевается, что любая В-клетка согласно настоящему изобретению, модифицированная для коэкспрессии определенного В-клеточного интегрин и хоминг-рецептора, который нацеливает В-клетку в определенную представляющую интерес ткань для хоминга/ткань-мишень, может быть дополнительно сконструирована для экспрессии одной или более иммуноингибирующих молекул для уменьшения воспаления и аутоиммунной активности В-клеток, локализованных в сайте, и/или обработана соединением, которое изменяет хоминг/нацеливание модифицированных В-клеток путем индукции экспрессии определенного В-клеточного интегрин и/или хоминг-рецептора.

[89] **Активация В-клеток агонистами TLR и TLR.** В-клетки обладают естественной способностью поглощать и презентировать антигены, распознаваемые их специфическими В-клеточными рецепторами (BCR). В-клетки, активированные толл-подобными рецепторами (TLR), приводят к образованию высокоактивных эффекторных В-клеток, защищающих организм от иммунного ответа. Экспрессия или повышение экспрессии TLR в В-клетках может обеспечить механизм повышения активности В-клеток в части природных сигналов, регулирующих адаптивные иммунные ответы.

[90] **Активация В-клеток агонистами TLR.** В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена В-клетка, где В-клетка обработана *in vitro* по меньшей мере одним агонистом TLR. В различных вариантах осуществления TLR может представлять собой TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и/или TLR13. В различных вариантах осуществления агонист TLR избирательно связывается с одним или более TLR, выбранными из группы, состоящей из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13. Агонисты TLR хорошо известны в данной области техники и могут включать, не ограничиваясь перечисленным, CpG-богатые олигонуклеотиды и миметики двухцепочечной РНК, полиинозиновую кислоту:полицитидиловую кислоту (поли-I:C). В различных вариантах осуществления агонист TLR может представлять собой CpG-олигонуклеотиды.

[91] В различных вариантах осуществления каждая В-клетка может быть обработана одним агонистом TLR. В различных вариантах осуществления каждая В-клетка может быть обработана более чем одним агонистом TLR. Например, каждая В-клетка может быть обработана 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 различными агонистами TLR. В качестве альтернативы пациенту может быть введена гетерогенная популяция В-клеток, где каждая В-клетка обработана уникальным агонистом TLR или комбинацией агонистов TLR. В некоторых вариантах осуществления В-клетки для применения в качестве терапевтического средства обрабатывают одним или более агонистами TLR одновременно или до введения В-клеток нуждающемуся в этом субъекту или пациенту. В отдельных вариантах осуществления обработка одним или более агонистами TLR способна обеспечить более высокоактивные эффекторные В-клетки для защиты организма при иммунном ответе. В отдельных вариантах осуществления обработка одним или более агонистами TLR способна повышать активность В-клеток в части иммунных ответов. В некоторых вариантах осуществления обработка В-клетки согласно настоящему изобретению по меньшей мере одним или более агонистами TLR индуцирует экспрессию или активацию одного или более TLR.

[92] **Активация В-клеток с помощью экспрессии TLR.** В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, способная экспрессировать конститутивно активный TLR. В различных вариантах осуществления TLR экспрессируется в модифицированной или сконструированной В-клетке в виде конструкции ДНК под контролем конститутивно активированного пути транскрипции. В различных вариантах осуществления TLR, участвующий в хоминге В-клеток, либо естественным образом не экспрессируется в В-клетке, либо экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке. В различных вариантах осуществления TLR может представлять собой TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и/или TLR13.

[93] В различных вариантах осуществления каждая В-клетка может экспрессировать более одного конститутивно активного TLR. Например, каждая В-клетка может экспрессировать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13 различных конститутивно активных TLR. В качестве альтернативы пациенту может быть введена гетерогенная популяция В-клеток, где каждая В-клетка способна экспрессировать и/или секретировать уникальный TLR или комбинацию TLR, которые являются конститутивно активными. В различных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или 13 различных конститутивно активных TLR могут быть введены субъекту или пациенту посредством гетерогенной популяции В-клеток.

[94] В отдельных вариантах осуществления настоящего изобретения В-клетка представляет собой модифицированную В-клетку, которая экспрессирует по меньшей мере один конститутивно активный TLR. В отдельных вариантах осуществления модифицированную В-клетку, которая экспрессирует по меньшей мере один конститутивно активный TLR, обрабатывают одним или более агонистами TLR. В

отдельных вариантах осуществления экспрессия конститутивно активного TLR способна обеспечить более высокоактивные эффекторные В-клетки для защиты организма при иммунном ответе. В отдельных вариантах осуществления экспрессия конститутивно активного TLR способна повышать активность В-клеток в части иммунных ответов. В отдельных вариантах осуществления модифицированная В-клетка экспрессирует как TLR, который является конститутивно активным, так и любой CAR-V согласно настоящей заявке. В различных вариантах осуществления модифицированную В-клетку, экспрессирующую TLR, который является конститутивно активным, и/или CAR-V, дополнительно обрабатывают одним или более агонистами TLR одновременно или до введения модифицированных В-клеток нуждающемуся в этом субъекту или пациенту. В отдельных вариантах осуществления В-клетки могут быть сконструированы для экспрессии полезных нагрузок и модуляторов, таких как TLR, в отсутствие CAR-V, для внутритуморального введения.

[95] Модифицированные В-клетки, которые презентируют антигены одновременно в молекулах HLA класса I и класса II. В-клетки, помимо их функции по продукции антител, также на высоком уровне экспрессируют молекулы человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) класса II и могут презентировать антигены CD4⁺ Т-клеткам (Hong et al., 2018, Immunity 49, 695-708). В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предложена модифицированная В-клетка, способная презентировать определенные представляющие интерес антигены и/или антигенные эпитопы, такие как опухолевые антигены или антигены инфекционных заболеваний, одновременно в молекулах HLA как класса I, так и класса II. Опухолевые антигены и антигены инфекционных заболеваний хорошо известны в данной области техники и описаны в предшествующих разделах. В отдельных вариантах осуществления определенный представляющий интерес антиген, например, опухолевый антиген или антиген инфекционного заболевания, сливают с нацеливающим сигналом лизосомального белка, который нацеливает антиген на лизосомы и презентирует антиген одновременно и эффективно в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В некоторых вариантах осуществления указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосома-ассоциированного мембранного белка-1 (LAMP1). В некоторых вариантах осуществления нацеливающий сигнал способен проникать в рециркуляционные компартменты эндосом. С-концевая последовательность Сlec9A представляет собой такой нацеливающий фрагмент. В контексте настоящего документа опухоль-специфический антиген или антиген инфекционного заболевания, слитый с нацеливающим сигналом, относится к аминокислотной последовательности, последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей пептид или белок, или молекуле РНК (например, молекуле мРНК) для применения в качестве терапевтического средства. В одном варианте осуществления опухоль-специфический антиген или антиген инфекционного заболевания, слитый с нацеливающим сигналом, относится к молекуле мРНК для применения в качестве терапевтического средства. В отдельных вариантах осуществления желательно, чтобы

опухоль-специфические антигены и/или антигены инфекционных заболеваний, слитые с нацеливающим сигналом, таким как нацеливающий сигнал LAMP1 или Clec9A, были нацелены на лизосомы или эндосомы и одновременно и эффективно презентировались в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В отдельных вариантах осуществления желательно, чтобы электропорация В-клеток (например, В-клеток человека) до или после созревания посредством мРНК, кодирующей представляющие интерес опухоль-специфические антигены и/или антигены инфекционных заболеваний, слитые с нацеливающим сигналом, таким как нацеливающий сигнала LAMP1 или Clec9A, была способна одновременно и эффективно презентировать определенные антигены и/или антигенные эпитопы в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В одном варианте осуществления представляющие интерес опухоль-специфические антигены и/или антигены инфекционного заболевания естественным образом не презентуются В-клеткой, естественным образом не презентуются В-клеткой одновременно в молекулах HLA как класса I, так и класса II или естественным образом не презентуются В-клеткой с высокой эффективностью в молекулах HLA как класса I, так и класса II. Предполагается, что введение таких электропорированных В-клеток субъекту, например, человеку-хозяину, будет способствовать развитию или усилению антиген-специфических иммунных ответов за счет одновременной и эффективной презентации определенных представляющих интерес антигенов и/или антигенных эпитопов в молекулах HLA как класса I, так и класса II.

[96] В различных вариантах осуществления изобретение относится к последовательности нуклеиновой кислоты, например, последовательности мРНК, кодирующей по меньшей мере один определенный представляющий интерес антиген, например, опухолевый антиген или антиген инфекционного заболевания, слитой с нацеливающим сигналом, таким как нацеливающий сигнал LAMP1, для применения в качестве терапевтического средства при электропорации В-клеток для одновременной и эффективной презентации определенного антигена и/или антигенных эпитопов в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В различных вариантах осуществления изобретение относится к последовательности нуклеиновой кислоты, например, последовательности мРНК, кодирующей более одного (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более) представляющего интерес определенного опухолевого антигена и/или антигена инфекционного заболевания, слитого с нацеливающим сигналом. В различных вариантах осуществления изобретение относится к пулам различных последовательностей нуклеиновых кислот, например, пулам различных последовательностей мРНК, для применения в качестве терапевтического средства при электропорации В-клеток, как описано выше, где каждый пул кодирует по меньшей мере один определенный представляющий интерес антиген, например, опухолевый антиген или антиген инфекционного заболевания, слитый с нацеливающим сигналом, который отличается от других пулов последовательностей мРНК. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления субъекту может быть введена однородная популяция В-клеток, где каждая

В-клетка подвергнута электропорации мРНК, кодирующей по меньшей мере один определенный представляющий интерес антиген, слитый с нацеливающим сигналом. В некоторых вариантах осуществления субъекту может быть введена однородная популяция В-клеток, где каждая В-клетка подвергнута электропорации мРНК, кодирующей более одного определенного представляющего интерес антигена, слитого с нацеливающим сигналом. В некоторых вариантах осуществления субъекту может быть введена гетерогенная популяция В-клеток, где каждая В-клетка подвергнута электропорации комбинацией мРНК, каждая из которых кодирует по меньшей мере один определенный представляющий интерес антиген, слитый с отличающимся нацеливающим сигналом.

[97] В некоторых вариантах осуществления В-клетки для применения в электропорации, как описано выше, могут представлять собой любые модифицированные В-клетки согласно настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления модифицированная В-клетка содержит химерный антигенный рецептор для В-клеток (CAR-B). В различных вариантах осуществления модифицированная В-клетка может экспрессировать CAR-B и одновременно и эффективно презентировать определенный представляющий интерес антиген и/или антигенные эпитопы в молекулах HLA как класса I, так и класса II.

[98] В различных вариантах осуществления изобретение относится к способу введения выделенных В-клеток нуждающемуся в этом пациенту. В различных вариантах осуществления пациенту может быть введена популяция В-клеток. В различных вариантах осуществления каждая В-клетка может экспрессировать более одного пептида или белка полезной нагрузки. Например, каждая В-клетка может экспрессировать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 различных полезных нагрузок. В качестве альтернативы пациенту может быть введена гетерогенная популяция В-клеток, где каждая В-клетка способна экспрессировать и/или секретировать уникальную полезную нагрузку или комбинацию полезных нагрузок. В различных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 различных полезных нагрузок могут быть введены пациенту посредством гетерогенной популяции В-клеток.

3. Способы лечения

[99] Таким образом, в некоторых аспектах изобретение включает способ лечения или предупреждения опухоли или раковой ткани, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества по меньшей мере одного CAR-B, раскрытого в настоящем документе.

[100] Предложены способы лечения заболеваний или расстройств, включая рак. В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к созданию опосредованного В-клетками иммунного ответа у субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного количества сконструированных иммунных клеток согласно настоящей заявке. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ, опосредованный В-клетками, направлен против клетки-мишени или клеток-мишеней. В некоторых вариантах осуществления сконструированная иммунная клетка содержит химерный антигенный

рецептор для В-клеток (CAR-B). В некоторых вариантах осуществления клетка-мишень представляет собой опухолевую клетку. В некоторых аспектах изобретение включает способ лечения или предупреждения злокачественного новообразования, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества по меньшей мере одной выделенной антигенсвязывающей молекулы, описанной в настоящем документе. В некоторых аспектах изобретение включает способ лечения или предупреждения злокачественного новообразования, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества по меньшей мере одной иммунной клетки, где иммунная клетка содержит по меньшей мере один химерный антигенный рецептор.

[101] В некоторых аспектах изобретение включает фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одну антигенсвязывающую молекулу, как описано в настоящем документе, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит дополнительный активный агент.

[102] В некоторых вариантах осуществления у субъекта диагностировано метастатическое заболевание, локализованное в печени. В других вариантах осуществления метастатическое заболевание представляет собой рак. В других вариантах осуществления рак метастазирует из первичной опухоли в молочной железе, толстой кишке, прямой кишке, пищеводе, легком, поджелудочной железе и/или желудке. В других вариантах осуществления у субъекта диагностированы нерезектабельные метастатические опухоли печени. В других вариантах осуществления у субъекта диагностированы нерезектабельные метастатические опухоли печени из первичного колоректального рака. В некоторых вариантах осуществления у субъекта диагностирована гепатоклеточная карцинома.

[103] Следует принимать во внимание, что целевые дозы для модифицированных В-клеток могут находиться в диапазоне 1×10^6 - 2×10^{10} клеток/кг, предпочтительно 2×10^6 клеток/кг, более предпочтительно. Следует принимать во внимание, что дозы выше и ниже этого диапазона могут быть подходящими для отдельных субъектов, и соответствующие уровни доз могут быть определены медицинским работником по мере необходимости. Кроме того, в соответствии с изобретением могут быть предоставлены многократные дозы клеток.

[104] Также предложены способы уменьшения размера опухоли у субъекта, включающие введение указанному субъекту модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению, где клетка содержит CAR-B-рецептор, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном на опухоли, полезную нагрузку или и CAR-B, и полезную нагрузку. В некоторых вариантах осуществления субъекта имеет солидную опухоль или злокачественное новообразование крови, такое как лимфома или лейкоз. В некоторых вариантах осуществления модифицированную В-клетку доставляют в ложе опухоли. В некоторых вариантах осуществления рак

присутствует в костном мозге субъекта.

[105] Также предложены способы хоминга В-клеток в представляющий интерес сайт/мишень у субъекта, включающие введение указанному субъекту модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению, где клетка содержит интегрин, хоминг-антитело, белок или рецептор, который привлекается к лиганду, хемокину или аттрактанту в представляющем интерес сайте/мишени. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес сайт/мишень представляет собой, например, ткань для хоминга или ткань-мишень, очаг воспаления в определенном месте или ткани, или опухоль или микроокружение опухоли, куда желательна доставка терапевтических полезных нагрузок.

[106] Также предложены способы снижения воспаления и аутоиммунной активности В-клеток в представляющем интерес сайте/мишени у субъекта, включающие введение указанному субъекту модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению, где клетка содержит иммуноингибирующую молекулу. В некоторых вариантах осуществления представляющий интерес сайт/мишень представляет собой, например, ткань для хоминга или ткань-мишень, очаг воспаления в определенном месте или ткани, или опухоль или микроокружение опухоли, куда желательна доставка терапевтических полезных нагрузок.

[107] Также предложены способы изменения перемещения В-клеток в представляющий интерес сайт/мишень у субъекта, включающие обработку В-клетки согласно настоящему изобретению соединением или его производными, подходящими для изменения перемещения В-клеток, и введение обработанных В-клеток нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых случаях соединение или его производные изменяют перемещение В-клеток путем повышения экспрессии интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций, экспрессируемых В-клетками.

[108] Также предложены способы повышения активности В-клеток и/или получения высокоактивных эффекторных В-клеток для повышения иммунных ответов у субъекта, включающие обработку В-клетки согласно настоящему изобретению по меньшей мере одним или более агонистами TLR и введение обработанной В-клетки нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления обработка В-клетки согласно настоящему изобретению по меньшей мере одним или более агонистами TLR индуцирует экспрессию или активацию одного или более TLR. В некоторых вариантах осуществления способ повышения активности В-клеток и/или получения высокоактивных эффекторных В-клеток для повышения иммунных ответов у субъекта дополнительно включает введение указанному субъекту модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению, которая экспрессирует по меньшей мере один или более конститутивно активных TLR. Также предложены способы повышения активности В-клеток и/или получения высокоактивных эффекторных В-клеток для повышения иммунных ответов у субъекта, включающие введение указанному субъекту модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению, где клетка

экспрессирует CAR-B-рецептор, содержащий антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном на опухоли, конститутивно активный TLR или как CAR-B, так и конститутивно активный TLR, где клетку обрабатывают по меньшей мере одним или более агонистами TLR одновременно или до введения клеток субъекту.

[109] Также предложены способы повышения антигенспецифических иммунных ответов у субъекта, включающие введение указанному субъекту модифицированной В-клетки согласно настоящему изобретению, где клетку подвергают электропорации последовательностью нуклеиновой кислоты, например, мРНК, кодирующей определенные опухолевые антигены, и /или антигены инфекционных заболеваний слитые с нацеливающим сигналом, таким как нацеливающий сигнал LAMP1 или Clec9A, для одновременной и эффективной презентации определенных антигенов и/или эпитопных антигенов в молекулах HLA как класса I, так и класса II. В некоторых вариантах осуществления субъекта имеет солидную опухоль или злокачественное новообразование крови, такое как лимфома или лейкоз.

[110] Подразумевается, что различные варианты осуществления способов лечения, в которых применяются сконструированные или модифицированные В-клетки согласно настоящей заявке, не являются взаимоисключающими и могут быть комбинированы друг с другом любым образом и без каких-либо ограничений, если прямо не указано обратное, для достижения или облегчения любого из результатов и/или терапевтических ответов, рассматриваемых в настоящем документе.

[111] В некоторых вариантах осуществления модифицированные В-клетки представляют собой аутологичные В-клетки. В некоторых вариантах осуществления модифицированные В-клетки представляют собой аллогенные В-клетки. В некоторых вариантах осуществления модифицированные В-клетки представляют собой гетерологичные В-клетки. В некоторых вариантах осуществления модифицированные В-клетки согласно настоящей заявке трансфицируют или трансдуцируют *in vivo*. В других вариантах осуществления сконструированные клетки трансфицируют или трансдуцируют *ex vivo*.

[112] В контексте настоящего документа термин «субъект» или «пациент» означает индивидуума. В некоторых аспектах субъект представляет собой млекопитающее, такое как человек. В некоторых аспектах субъект может представлять собой примата, отличного от человека. Приматы, отличные от людей, включают, среди прочего, включают мартышек, обезьян, шимпанзе, горилл, орангутанов и гиббонов. Термин «субъект» также включает домашних животных, таких как кошки, собаки и т. д., домашний скот (например, лам, лошадей, коров), диких животных (например, оленя, лося, американского лося и т. д.), лабораторных животных (например, мышь, кролика, крысу, песчанку, морскую свинку и т. д.) и породы птиц (например, кур, индеек, уток и т. д.). Предпочтительно субъект представляет собой субъекта-человека. Более предпочтительно субъект представляет собой пациента-человека.

[113] Способы могут дополнительно включать введение одного или более

химиотерапевтических средств. В отдельных вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство с лимфодеплетизирующим (прекондиционирующим) действием. Эффективные схемы кондиционирования наряду с соответствующими эффективными биомаркерами описаны в предварительных заявках на патент США 62/262,143 и 62/167,750, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки. В них описаны, например, способы кондиционирования пациента, нуждающегося в Т-клеточной терапии, включающие введение указанному пациенту определенных эффективных доз циклофосфида (от 200 мг/м²/сут до 2000 мг/м²/сут) и определенных доз флударабина (от 20 мг/м²/сут до 900 мг/м²/сут). Предпочтительный режим дозирования включает лечение пациента, включающее ежедневное введение пациенту приблизительно 500 мг/м²/сут циклофосфида и приблизительно 60 мг/м²/сут флударабина в течение трех дней перед введением терапевтически эффективного количества сконструированных В-клеток пациенту.

[114] В других вариантах осуществления каждое из антигенсвязывающей молекулы, трансдуцированных (или иным образом сконструированных) клеток (таких как CAR) и химиотерапевтического средства вводят в количестве, эффективном для лечения заболевания или состояния у субъекта.

[115] В отдельных вариантах осуществления композиции, содержащие CAR-экспрессирующие иммунные эффекторные клетки, раскрытые в настоящем документе, могут быть введены в сочетании с любым количеством химиотерапевтических средств. Примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN™); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилмеламин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, мехлорэтамину оксид гидрохлорид, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацилмустин; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзрубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пуромицин, квелаамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пуринов, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тигуанин; аналоги пиримидинов, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур,

цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, 5-FU; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестолактон; средства, угнетающие функцию надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамид гликозид; аминоклевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бизантрин; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элфорнитин; ацетат эллиптиния; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK®; разоксан; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ara-C»); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел (Taxol®, Bristol-Myers Squibb) и доксетаксел (Taxotere®, Rhone-Poulenc Rorer); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навельбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоклутерин; кселоду; ибандронат; CPT-11; ингибитор топоизомеразы RFS2000; дифторметилмитин (DMFO); производные ретиноевой кислоты, такие как Targretin™ (бексаротен), Panretin™ (алитретиноин); Ontak™ (денилейкин дифтитокс); эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных. В это определение также включены антигормональные средства, которые регулируют или ингибируют действие гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (фарестон); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных. При необходимости также вводят комбинации химиотерапевтических средств, включая, не ограничиваясь перечисленным, СНОР, т. е. циклофосфамид (Cytosan®), доксорубицин (гидроксидоксорубицин), флударабин, винкристин (Oncovin®) и преднизолон.

[116] В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство вводят одновременно или в течение одной недели после введения сконструированной клетки или нуклеиновой кислоты. В других вариантах осуществления химиотерапевтическое средство вводят от 1 до 4 недель или от 1 недели до 1 месяца, от 1 недели до 2 месяцев, от 1 недели до 3 месяцев, от 1 недели до 6 месяцев, от 1 недели до 9 месяцев или от 1 недели до 12 месяцев после введения сконструированной клетки или нуклеиновой кислоты. В других вариантах осуществления химиотерапевтическое средство вводят по меньшей мере за 1 месяц до введения клетки или нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают введение двух или более химиотерапевтических средств.

[117] Различные дополнительные терапевтические средства могут быть использованы в сочетании с композициями, описанными в настоящем документе. Например, потенциально подходящие дополнительные терапевтические средства включают ингибиторы PD-1 (или PD-L1), такие как ниволумаб (Opdivo®), пембролизумаб (Keytruda®), пембролизумаб, пидилизумаб и атезолизумаб (Tecentriq®). Другие дополнительные терапевтические средства включают антитела к CTLA-4 (например, Ipilimumab®), антитела к LAG-3 (например, Relatlimab, BMS), отдельно или в комбинации с ингибиторами PD-1 и/или PD-L1.

[118] Дополнительные терапевтические средства, подходящие для применения в комбинации с изобретением, включают, не ограничиваясь перечисленным, ибрутиниб (Imbruvica®), офатумумаб (Arzerra®), ритуксимаб (Rituxan®), бевацизумаб (Avastin®), трастузумаб (Herceptin®), трастузумаб эмтанзин (KADCYLA®), иматиниб (Gleevec®), цетуксимаб (Erbix®), панитумумаб (Vectibix®), катумаксомаб, ибритумомаб, офатумумаб, тозитумомаб, брентуксимаб, алемтузумаб, гемтузумаб, эрлотиниб, gefitinib, вандетаниб, афатиниб, лапатиниб, нератиниб, акситиниб, мазитиниб, пазопаниб, сунитиниб, сорафениб, тоцераниб, лестауртиниб, акситиниб, цедираниб, ленватиниб, нинтеданиб, пазопаниб, регорафениб, семаксаниб, сорафениб, сунитиниб, тивозаниб, тоцераниб, вандетаниб, энтректиниб, кабозантиниб, иматиниб, дазатиниб, нилотиниб, понатиниб, радотиниб, бозутиниб, лестауртиниб, руксолитиниб, пакритиниб, кобиметиниб, селуметиниб, траметиниб, биниметиниб, алектиниб, церитиниб, кризотиниб, афлиберцепт, адипотид, денилейкин дифтитокс, ингибиторы mTOR, такие как эверолимус и темсилолимус, ингибиторы hedgehog, такие как сонидегиб и висмодегиб, ингибиторы CDK, такие как ингибитор CDK (палбоциклиб).

[119] В дополнительных вариантах осуществления композицию, содержащую CAR-содержащие В-клетки, можно вводить с противовоспалительным средством. Противовоспалительные средства или лекарственные средства включают, не ограничиваясь перечисленным, стероиды и глюкокортикоиды (включая бетаметазон, будесонид, дексаметазон, гидрокортизона ацетат, гидрокортизон, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон, преднизолон, триамцинолон), нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), включая аспирин, ибупрофен, напроксен, метотрексат, сульфасалазин, лефлуномид, препараты против TNF, циклофосфамид и микофенолат. Примеры НПВП включают ибупрофен, напроксен, напроксен натрия, ингибиторы ЦОГ-2 и салилаты. Примеры анальгетиков включают ацетаминофен, оксикодон, трамадол или пропороксифена гидрохлорид. Примеры глюкокортикоидов включают кортизон, дексаметазон, гидрокортизон, метилпреднизолон, преднизолон или преднизон. Примеры модификаторов биологического ответа включают молекулы, направленные против маркеров клеточной поверхности (например, CD4, CD5 и т. д.), ингибиторы цитокинов, такие как антагонисты TNF (например, этанерцепт (ENBREL®), адалимумаб (HUMIRA®) и инфликсимаб (REMICADE®)), ингибиторы хемокинов и ингибиторы молекул адгезии. Модификаторы биологического ответа включают

моноклональные антитела, а также рекомбинантные формы молекул. Примеры DMARD (антиревматоидные лекарственные средства, модифицирующие заболевание) включают азатиоприн, циклофосфамид, циклоспорин, метотрексат, пеницилламин, лефлуномид, сульфасалазин, гидроксихлорохин, золото (пероральное (ауранофин) и внутримышечное) и миноциклин.

[120] В отдельных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем документе, вводят в сочетании с цитокином. Под «цитокином» в контексте настоящего документа подразумеваются белки, выделяемые одной клеточной популяцией, которые действуют на другую клетку как медиаторы межклеточных взаимодействий. Примерами цитокинов являются лимфокины, монокины и традиционные полипептидные гормоны. Цитокины включают гормоны роста, такие как гормон роста человека, N-метионил-гормон роста человека и бычий гормон роста; паратиреоидный гормон; тироксин; инсулин; проинсулин; релаксин; прорелаксин; гликопротеиновые гормоны, такие как фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), тиреотропный гормон (ТТГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ); фактор роста печени (HGF); фактор роста фибробластов (FGF); пролактин; плацентарный лактоген; антимюллеров гормон; мышинный гонадотропин-ассоциированный пептид; ингибин; активин; фактор роста эндотелия сосудов; интегрин; тромбopoэтин (ТПО); факторы роста нервов (NGF), такие как NGF-бета; фактор роста тромбоцитов; трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGF-альфа и TGF-бета; инсулиноподобный фактор роста-I и -II; эритропоэтин (ЭПО); остеоиндуктивные факторы; интерфероны, такие как интерферон-альфа, -бета и -гамма; колониестимулирующие факторы (CSF), такие как макрофагальный CSF (M-CSF); гранулоцитарно-макрофагальный CSF (GM-CSF); и гранулоцитарный CSF (G-CSF); интерлейкины (IL), такие как IL-1, IL-1 альфа, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, фактор некроза опухоли, такой как TNF-альфа или TNF-бета; и другие полипептидные факторы, включая LIF и лиганд kit (KL). В контексте настоящего документа термин «цитокин» включает белки из природных источников или из культуры рекомбинантных клеток, а также биологически активные эквиваленты цитокинов с нативной последовательностью.

4. Способы получения

[121] Для получения полинуклеотидов, полипептидов, векторов, антигенсвязывающих молекул, иммунных клеток, композиций и т. п. согласно изобретению можно использовать множество известных способов.

[122] Перед осуществлением манипуляций *in vitro* или генетической модификацией иммунных клеток, описанных в настоящем документе, клетки могут быть получены от субъекта. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки включают В-клетки. В-клетки могут быть получены из множества источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС), костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань из сайта инфекции, асцит, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли. В отдельных вариантах осуществления В-клетки могут быть

получены из единицы крови, взятой у субъекта, с использованием любого количества методов, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение FICOLL™. Клетки предпочтительно могут быть получены из циркулирующей крови индивидуума получают с помощью афереза. Продукт афереза обычно содержит лимфоциты, в том числе Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядродержащие лейкоциты, эритроциты и тромбоциты. В отдельных вариантах осуществления клетки, собранные с помощью афереза, могут быть промыты для удаления фракции плазмы и помещены в подходящий буфер или среду для последующей обработки. Клетки могут быть промыты PBS. Следует принимать во внимание, что можно использовать стадию промывки, например, с использованием полуавтоматической проточной центрифуги, например, процессора клеток Cobe™ 2991, Baxter Cyto-Mate™ и т. п. После промывки клетки могут быть ресуспендированы в различных биосовместимых буферах или другом солевом растворе с буфером или без него. В отдельных вариантах осуществления нежелательные компоненты образца продукта афереза могут быть удалены.

[123] Иммунные клетки, такие как В-клетки, могут быть генетически модифицированы после выделения с использованием известных способов, или иммунные клетки могут быть активированы и размножены (или дифференцированы в случае клеток-предшественников) *in vitro* перед генетической модификацией. В еще одном варианте осуществления иммунные клетки, такие как В-клетки, генетически модифицируют химерными В-клеточными рецепторами, описанными в настоящем документе (например, трансдуцируют вирусным вектором, содержащим одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих CAR-B), а затем активируют и/или размножают *in vitro*. Способы активации и размножения В-клеток известны в данной области техники и описаны, например, в патентах США №№ 6905874; 6867041; 6797514; и PCT WO 2012/079000, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. Как правило, такие способы включают приведение РВМС или выделенных В-клеток в контакт со стимулирующим агентом и костимулирующим агентом, обычно прикрепленным к грануле или другой поверхности, в культуральной среде с подходящими цитокинами, такими как IL-2.

[124] В других вариантах осуществления В-клетки могут быть активированы и стимулированы для осуществления пролиферации фидерными клетками и подходящими антителами и цитокинами с использованием способов, таких как описанные в патентах США №№ 6040177; 5827642; и WO/2012129514, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

[125] Некоторые способы получения конструкций и сконструированных иммунных клеток согласно изобретению описаны в заявке PCT PCT/US2015/14520, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. Дополнительные способы получения конструкций и клеток можно найти в предварительной заявке на патент США № 62244036, содержание которой включено в

настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

[126] Для клонирования полинуклеотидов вектор может быть введен в клетку-хозяина (выделенную клетку-хозяина), чтобы сделать возможным репликацию самого вектора и тем самым амплифицировать содержащиеся в нем копии полинуклеотида. Клонирование векторы могут содержать компоненты последовательности, обычно включающие, не ограничиваясь перечисленным, точку начала репликации, промоторные последовательности, последовательности инициации транскрипции, энхансерные последовательности и селектируемые маркеры. Эти элементы могут быть выбраны соответствующим образом специалистом в данной области техники. Например, точку начала репликации можно выбрать для обеспечения автономной репликации вектора в клетке-хозяине.

[127] В отдельных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенным клеткам-хозяевам, содержащим вектор, предложенный в настоящем документе. Клетки-хозяева, содержащие вектор, могут быть использованы для экспрессии или клонирования полинуклеотида, содержащегося в векторе. Подходящие клетки-хозяева могут включать, не ограничиваясь перечисленным, прокариотические клетки, клетки грибов, дрожжевые клетки или клетки высших эукариот, такие как клетки млекопитающих. Подходящие прокариотические клетки для этой цели включают, не ограничиваясь перечисленным, эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например, *Enterobacteriaceae*, такие как *Escherichia*, например, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, e.g., *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, e.g., *Serratia marc-escans* и *Shigella*, а также *Bacilli*, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis*, *Pseudomonas*, такие как *P. aeruginosa*, и *Streptomyces*.

[128] Вектор может быть введен в клетку-хозяина с использованием любых подходящих способов, известных в данной области техники, включая, не ограничиваясь перечисленным, доставку, опосредованную ДЭАЭ-декстраном, метод преципитации с фосфатом кальция, доставку, опосредованную катионными липидами, липосомную трансфекцию, электропорацию, бомбардировку микрочастицами, рецептор-опосредованную доставку генов, доставку, опосредованную полилизинном, гистонном, хитозаном и пептидами. Стандартные способы трансфекции и трансформации клеток для экспрессии представляющего интерес вектора хорошо известны в данной области техники. В другом варианте осуществления смесь различных векторов экспрессии может быть использована для генетической модификации донорной популяции иммунных эффекторных клеток, где каждый вектор кодирует разные CAR-B, как раскрыто в настоящем документе. Полученные трансдуцированные иммунные эффекторные клетки образуют смешанную популяцию сконструированных клеток, причем часть сконструированных клеток экспрессирует более одного CAR-B, которые являются разными.

[129] В одном варианте осуществления изобретение обеспечивает способ хранения генетически сконструированных клеток, экспрессирующих CAR-B, которые нацелены на

белок. Это включает криоконсервацию иммунных клеток таким образом, чтобы они оставались жизнеспособными при размораживании. Фракция иммунных клеток, экспрессирующих CAR-B, может быть криоконсервирована способами, известными в данной области техники, чтобы обеспечить постоянный источник таких клеток для будущего лечения пациентов, пораженных злокачественным новообразованием. При необходимости криоконсервированные трансформированные иммунные клетки можно разморозить, вырастить и увеличить для получения большего количества таких клеток.

[130] В контексте настоящего документа «криоконсервация» относится к сохранению клеток путем охлаждения до отрицательных температур, таких как (обычно) 77 Кельвинов или 196 °C (точка кипения жидкого азота). Криопротекторы часто используют при отрицательных температурах, чтобы сохранить клетки от повреждений, вызванных замораживанием при низких температурах или нагреванием до комнатной температуры. Криоконсерванты и оптимальные скорости охлаждения могут защитить клетки от повреждения. Криопротекторы, которые можно использовать в соответствии с изобретением, включают, не ограничиваясь перечисленным: диметилсульфоксид (DMSO) (Lovelock & Bishop, *Nature*, 1959, 183, 1394-1395; Ashwood-Smith, *Nature*, 1961, 190, 1204-1205), глицерин, поливинилпирролидон (Rinfret, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 85, 576) и полиэтиленгликоль (Sloviter & Ravdin, *Nature*, 1962, 196, 48). Предпочтительная скорость охлаждения составляет 1°-3° C/минуту

[131] Термин «по существу чистый» используется для обозначения того, что данный компонент присутствует на высоком уровне. Компонент желательно является преобладающим компонентом, присутствующим в композиции. Предпочтительно он присутствует на уровне более 30%, более 50%, более 75%, более 90% или даже более 95%, причем указанный уровень определяется в пересчете на сухую массу/сухую массу относительно общей массы рассматриваемой композиции. При очень высоких уровнях (например, при уровнях более 90%, более 95% или более 99%) компонент можно рассматривать как находящийся в «чистой форме». Биологически активные вещества согласно настоящему изобретению (включая полипептиды, молекулы нуклеиновых кислот, антигенсвязывающие молекулы, фрагменты) могут быть представлены в форме, по существу свободной от одного или более загрязняющих веществ, с которыми вещество могло бы в противном случае быть связано. Когда композиция по существу не содержит данного загрязнителя, уровень загрязняющего вещества будет низким (например, на уровне менее 10%, менее 5% или менее 1% в пересчете на сухую массу/сухую массу, как указано выше).

[132] В некоторых вариантах осуществления клетки готовят путем их первоначального сбора из их культуральной среды, а затем промывания и концентрирования клеток в среде и системе контейнеров, подходящей для введения («фармацевтически приемлемый» носитель) в эффективном для лечения количестве. Подходящей инфузионной средой может быть любой состав изотонической среды, обычно физиологический раствор, NormosolTM R (Abbott) или Plasma-LyteTM A (Baxter), но

также можно использовать 5% раствор декстрозы в воде или Рингер-лактат. Инфузионная среда может быть дополнена сывороточным альбумином человека.

[133] Желаемое лечебное количество клеток в композиции обычно составляет по меньшей мере 2 клетки или, как правило, более 10^2 клеток и до 10^6 , до 10^8 или 10^9 клеток включительно и может составлять более 10^{10} клеток. Количество клеток будет зависеть от желаемого применения, для которого предназначена композиция, а также от типа включенных в нее клеток. Плотность желаемых клеток обычно составляет более 10^6 клеток/мл и обычно составляет более 10^7 клеток/мл, обычно 10^8 клеток/мл или более. Клинически значимое количество иммунных клеток может быть распределено на несколько инфузий, которые в совокупности равны или превышают 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} или 10^{12} клеток. В некоторых аспектах настоящего изобретения, в частности, поскольку все введенные клетки будут перенаправлены на определенный антиген-мишень, можно вводить меньшее количество клеток, в диапазоне 10^6 /килограмм (10^6 - 10^{11} на пациента). Обработки CAR-B могут быть осуществлены многократно в дозировках в пределах этих диапазонов. Клетки могут быть аутологичными, аллогенными или гетерологичными по отношению к пациенту, проходящему терапию. В некоторых аспектах в одном продукте находятся разные CAR-B-клетки. В композиции может содержаться всего 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или до 10 различных CAR-B-клеток. Они могут состоять из клеток, экспрессирующих химерный белок CAR, и B-клеток, экспрессирующих другие CAR и/или полезные нагрузки.

[134] B-клетки согласно настоящему изобретению могут быть введены либо отдельно, либо в виде фармацевтической композиции в комбинации с разбавителями и/или с другими компонентами, такими как IL-2 или другие цитокины или клеточные популяции. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут содержать клеточную популяцию, экспрессирующую CAR-B, такую как B-клетки, как описано в настоящем документе, в комбинации с одним или более фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами. Такие композиции могут содержать буферы, такие как нейтральный забуференный солевой раствор, натрий-фосфатный буфер и т. п.; углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннит; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион; адъюванты (например, гидроксид алюминия); и консерванты. Композиции согласно настоящему изобретению предпочтительно составлены для внутривенного введения. Лечение может также включать один или несколько кортикостероидов, таких как дексаметазон и/или метилпреднизолон.

[135] Композиции согласно настоящей заявке могут содержать, по существу состоять из или состоять из раскрытых компонентов.

[136] Фармацевтические композиции согласно изобретению (растворы, суспензии и т. п.) могут включать одно или более из следующих веществ: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический

раствор, раствор Рингера, изотонический хлорид натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые могут служить растворителем или суспендирующей средой, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфат натрия; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и агенты для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Парентеральный препарат может быть заключен в ампулы, одноразовые шприцы или многодозовые флаконы из стекла или пластика. Инъекционная композиция предпочтительно является стерильной.

[137] Следует принимать во внимание, что нежелательные явления можно свести к минимуму путем трансдукции иммунных клеток (содержащих один или более CAR-B) суицидальным геном. Также может быть желательно включить в иммунные клетки индуцибельный «включающий» или «ускоряющий» переключатель. В этих методиках могут использоваться домены димеризации и необязательные активаторы таких доменов димеризации. Эти методы включают, например, методы, описанные в источнике Wu et al., Science 2014, 350(6258), в которых используются системы димеризации FKBP/Rapalog в определенных клетках, содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. Дополнительная технология для димеризации описана, например, в Fegan et al. Chem. Rev. 2010, 110, 3315-3336, а также в патентах США №№ 5830462; 5834266; 5869337; и 6165787, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. Дополнительные пары димеризации могут включать циклоспорин-А/циклофилин, рецептор, эстроген/эстрогеновый рецептор (необязательно с использованием тамоксифена), глюкокортикоиды/глюкокортикоидный рецептор, тетрациклин/тетрациклиновый рецептор, витамин D/рецептор витамина D. Дополнительные примеры технологии для димеризации содержатся, например, в WO 2014/127261, WO 2015/090229, US 2014/0286987, US 2015/0266973, US 2016/0046700, патенте США № 8486693, US 2014/0171649 и US 2012/0130076, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

[138] Подходящие методики включают применение индуцибельной каспазы-9 (публикация заявки на патент США № 2011/0286980) или тимидинкиназы до, после или одновременно с трансдукцией клеток конструкцией CAR-B согласно настоящему изобретению. Дополнительные способы введения суицидных генов и/или «включающих» переключателей включают CRISPR, TALENS, MEGATALEN, цинковые пальцы, РНКи, киРНК, кшРНК, антисмысловую технологию и другие методы, известные в данной области техники.

[139] Анти-CD20 или анти-CD19 представляют собой дополнительные средства для снижения количества или устранения сконструированных В-клеток, если такие клетки обуславливают нежелательные явления или патологии.

[140] Следует принимать во внимание, что приведенные в настоящем документе описания являются иллюстративными и пояснительными и не ограничивают заявленное изобретение. В данной заявке использование единственного числа включает множественное число, если специально не указано иное.

[141] Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описываемый предмет. Все документы или части документов, цитируемые в заявке, включая, не ограничиваясь перечисленным, патенты, патентные заявки, статьи, книги и научные труды, настоящим явным образом включены посредством ссылки в полном объеме для любых целей. При использовании в соответствии с настоящим изобретением следующие термины, если не указано иное, следует понимать как имеющие следующие значения:

[142] В данной заявке использование «или» означает «и/или», если не указано иное. Кроме того, использование термина «включающий», а также других форм, таких как «включает» и «включено», не имеет ограничительного характера. Кроме того, такие термины, как «элемент» или «компонент», охватывают как элементы и компоненты, состоящие из одной единицы, так и элементы и компоненты, состоящие из более чем одной субъединицы, если специально не указано иное.

[143] Термин «полинуклеотид», «нуклеотид» или «нуклеиновая кислота» включает как одноцепочечные, так и двухцепочечные нуклеотидные полимеры. Нуклеотиды, составляющие полинуклеотид, могут представлять собой рибонуклеотиды или дезоксирибонуклеотиды, или модифицированную форму любого из этих типов нуклеотидов. Указанные модификации включают модификации оснований, такие как производные бромуридино и инозином, модификации рибозы, такие как 2',3'-дидезоксирибоза, и модификации межнуклеотидных связей, такие как тиофосфат, дитиофосфат, фосфорселеноат, фосфордиселеноат, фосфоранилотиоат, фосфораниладат и амидофосфат.

[144] Термин «олигонуклеотид» относится к полинуклеотиду, содержащему 200 или менее нуклеотидов. Олигонуклеотиды могут быть одноцепочечными или двухцепочечными, например, для использования при конструировании мутантного гена. Олигонуклеотиды могут представлять собой смысловые или антисмысловые олигонуклеотиды. Олигонуклеотид может включать метку, включая радиоактивную метку, флуоресцентную метку, гаптен или антигенную метку, для анализов обнаружения. Олигонуклеотиды могут применяться, например, в качестве праймеров для ПЦР, праймеров для клонирования или зондов для гибридизации.

[145] Термин «контрольная последовательность» относится к полинуклеотидной последовательности, которая может влиять на экспрессию и процессинг кодирующих последовательностей, с которыми она лигирована. Природа таких контрольных последовательностей может зависеть от организма-хозяина. В частных вариантах осуществления контрольные последовательности для прокариот могут включать

промотор, сайт связывания рибосомы и последовательность терминации транскрипции. Например, контрольные последовательности для эукариот могут включать промоторы, содержащие один или несколько сайтов распознавания для факторов транскрипции, последовательности энхансеров транскрипции и последовательности терминации транскрипции. «Контрольные последовательности» могут включать лидерные последовательности (сигнальные пептиды) и/или последовательности партнера по слиянию.

[146] В контексте настоящего документа «функционально связанный» означает, что компоненты, к которым применяется этот термин, находятся во взаимосвязи, которая позволяет им выполнять присущие им функции в подходящих условиях.

[147] Термин «вектор» означает любую молекулу или объект (например, нуклеиновую кислоту, плазмиду, бактериофаг или вирус), используемые для переноса информации, кодирующей белок, в клетку-хозяина. Термин «вектор экспрессии» или «конструкция экспрессии» относится к вектору, который подходит для трансформации клетки-хозяина и содержит последовательности нуклеиновых кислот, которые направляют и/или контролируют (в сочетании с клеткой-хозяином) экспрессию одной или более гетерологичных кодирующих областей, функционально связанных с ними. Конструкция экспрессии может включать, но ограничиваясь перечисленным, последовательности, которые влияют на или контролируют транскрипцию, трансляцию и, если присутствуют интроны, влияют на сплайсинг РНК кодирующей области, функционально связанной с ними.

[148] Термин «клетка-хозяин» относится к клетке, которая была трансформирована или способна быть трансформирована последовательностью нуклеиновой кислоты и тем самым экспрессирует представляющий интерес ген. Данный термин включает потомство родительской клетки, независимо от того, идентично ли потомство по морфологии или генетической характеристике исходной родительской клетке, при условии наличия представляющего интерес гена.

[149] Термин «трансформация» относится к изменению генетических характеристик клетки, и клетка была трансформирована, когда она была модифицирована таким образом, чтобы она содержала новую ДНК или РНК. Например, клетка трансформирована, когда она генетически модифицирована из своего нативного состояния путем введения нового генетического материала посредством трансфекции, трансдукции или других методов. После трансфекции или трансдукции трансформирующая ДНК может рекомбинировать с ДНК клетки путем физической интеграции в хромосому клетки, или может временно сохраняться в виде эписомального элемента без репликации, или может независимо реплицироваться в виде плазмиды. Клетка считается «стабильно трансформированной», когда трансформирующая ДНК реплицируется при делении клетки.

[150] Термин «трансфекция» относится к поглощению чужеродной или экзогенной ДНК клеткой. Ряд способов трансфекции хорошо известен в данной области техники и

раскрыт в настоящем документе. См., Graham et al., VIROLOGY, 1973, 52:456; Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2001, см. выше; Davis et al., Basic Methods in Molecular Biology, 1986, Elsevier; Chu et al., Gene, 1981, 13:197.

[151] Термин «трансдукция» относится к процессу, при котором чужеродную ДНК вводят в клетку с помощью вирусного вектора. См., например, Jones et al., Genetics: principles and analysis, 1998, Boston: Jones & Bartlett Publ.

[152] Термины «полипептид» или «белок» относятся к макромолекуле, имеющей аминокислотную последовательность белка, включая делеции, добавления и/или замены одной или более аминокислот нативной последовательности. Термины «полипептид» и «белок» специально охватывают антигенсвязывающие молекулы, антитела или последовательности, которые имеют делеции, добавления и/или замены одной или более аминокислот антигенсвязывающего белка. Термин «фрагмент полипептида» относится к полипептиду, который имеет делецию на аминоконце, делецию на карбоксиконце и/или внутреннюю делецию по сравнению с полноразмерным нативным белком. Такие фрагменты также могут содержать модифицированные аминокислоты по сравнению с нативным белком. Полезные полипептидные фрагменты включают иммунологически функциональные фрагменты антигенсвязывающих молекул.

[153] Термин «выделенный» означает (i) не содержащий по меньшей мере некоторых других белков, вместе с которыми он обычно присутствует, (ii) по существу не содержащий других белков из того же источника, например, от того же вида, (iii) отделенный от по меньшей мере приблизительно 50 процентов полинуклеотидов, липидов, углеводов или других веществ, с которыми он связан естественным образом, (iv) функционально связанный (путем ковалентного или нековалентного взаимодействия) с полипептидом, с которым он не связан естественным образом, или (v) не встречающийся естественным образом.

[154] «Вариант» полипептида (например, антигенсвязывающая молекула) содержит аминокислотную последовательность, в которой один или более аминокислотных остатков вставлены, удалены и/или заменены в аминокислотной последовательности по сравнению с другой полипептидной последовательностью. Варианты включают слитые белки.

[155] Термин «идентичность» относится к взаимосвязи между последовательностями двух или более молекул полипептида или двух или более молекул нуклеиновой кислоты, определяемой путем выравнивания и сравнения последовательностей. «Процент идентичности» означает процент идентичных остатков в сравниваемых молекулах аминокислот или нуклеотидов и рассчитывается на основе размера наименьшей из сравниваемых молекул. Для этих расчетов гэпы в выравнивании (если таковые имеются) предпочтительно учитываются с помощью определенной математической модели или компьютерной программы (т. е. «алгоритма»).

[156] Чтобы вычислить процент идентичности, сравниваемые последовательности обычно выравнивают таким образом, чтобы получить наибольшее совпадение между

последовательностями. Одним из примеров компьютерной программы, которая может быть использована для определения процента идентичности, является пакет программ GCG, включающий GAP (Devereux et al., Nucl. Acid Res., 1984, 12, 387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Мадисон, Висконсин). Компьютерный алгоритм GAP используется для выравнивания двух полипептидов или полинуклеотидов, для которых необходимо определить процент идентичности последовательностей. Последовательности выравнивают для оптимального соответствия их соответствующих аминокислот или нуклеотидов («охвата совпадения», как определено алгоритмом). В отдельных вариантах осуществления в алгоритме также используется стандартная матрица сравнения (см., например, Dayhoff et al., 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure, 1978, 5:345-352, где описана матрица сравнения PAM 250; Henikoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1992, 89, 10915-10919, где описана матрица сравнения BLO-SUM 62).

[157] В контексте настоящего документа двадцать базовых (например, встречающихся естественным образом) аминокислот и их сокращения соответствуют общепринятому использованию. См., например, источник Immunology A Synthesis (2nd Edition, Golub and Green, Eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991)), включенный в настоящий документ посредством ссылки для любых целей. Стереоизомеры (например, D-аминокислоты) двадцати базовых аминокислот, нестандартные аминокислоты, такие как альфа-, альфа-дизамещенные аминокислоты, N-алкиламинокислоты, молочная кислота и другие нетрадиционные аминокислоты, также могут быть подходящими компонентами для полипептидов согласно настоящему изобретению. Примеры нестандартных аминокислот включают: 4-гидроксипролин, гамма-карбоксиглутамат, эпсилон-N, N,N-триметиллизин, е-N-ацетиллизин, O-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формилметионин, 3-метилгистидин, 5-гидроксилизин, сигма- N-метиларгинин и другие подобные аминокислоты и иминокислоты (например, 4-гидроксипролин). В обозначениях полипептидов, используемых в настоящем документе, левое направление представляет собой аминоконцевое направление, а правое направление представляет собой карбоксиконцевое направление в соответствии со стандартным общепринятым использованием.

[158] Консервативные аминокислотные замены могут охватывать не встречающиеся естественным образом аминокислотные остатки, которые обычно встраиваются путем химического пептидного синтеза, а не путем синтеза в биологических системах. К ним относятся пептидомиметики и реверсированные обращенные или инвертированные формы фрагментов аминокислот. Встречающиеся естественным образом остатки можно разделить на классы на основании общих свойств боковой цепи:

- a) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- b) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- c) кислые: Asp, Glu;
- d) основные: His, Lys, Arg;
- e) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro; и

f) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[159] Например, неконсервативные замены могут включать замену члена одного из этих классов на член другого класса.

[160] При внесении изменений в антигенсвязывающую молекулу, костимулирующие или активирующие домены сконструированной Т-клетки, в соответствии с отдельными вариантами осуществления, можно учитывать индекс гидропатичности аминокислот. Каждой аминокислоте был присвоен индекс гидропатичности на основе ее характеристик гидрофобности и заряда. Они представляют собой: изолейцин (+4,5); валин (+4,2); лейцин (+3,8); фенилаланин (+2,8); цистеин/цистин (+2,5); метионин (+1,9); аланин (+1,8); глицин (-0,4); треонин (-0,7); серин (-0,8); триптофан (-0,9); тирозин (-1,3); пролин (-1,6); гистидин (-3,2); глутамат (-3,5); глутамин (-3,5); аспартат (-3,5); аспарагин (-3,5); лизин (-3,9); и аргинин (-4,5). См., например, Kyte et al., J. Mol. Biol., 1982, 157, 105-131. Известно, что некоторые аминокислоты могут быть заменены другими аминокислотами, имеющими аналогичный индекс или показатель гидропатичности, и при этом сохраняется аналогичная биологическая активность. Также в данной области техники известно, что замена подобных аминокислот может быть эффективно осуществлена на основе гидрофильности, в частности, когда созданный таким образом биологически функциональный белок или пептид предназначен для применения в иммунологических вариантах осуществления, как в данном случае. Иллюстративные аминокислотные замены приведены в таблице 5.

ТАБЛИЦА 5

Исходные остатки	Иллюстративные замены	Предпочтительные замены
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, норлейцин	Leu
Leu	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-диаминомасляная	Arg

	кислота Acid, Gin, Asn	
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, норлейцин	Leu

[161] Термин «производное» относится к молекуле, которая включает химическую модификацию, отличную от вставки, делеции или замены аминокислот (или нуклеиновых кислот). В отдельных вариантах осуществления производные содержат ковалентные модификации, включая, не ограничиваясь перечисленным, химическую связь с полимерами, липидами или другими органическими или неорганическими остатками. В отдельных вариантах осуществления химически модифицированная антигенсвязывающая молекула может иметь более длительный период полувыведения из кровотока, чем антигенсвязывающая молекула, которая не является химически модифицированной. В некоторых вариантах осуществления производная антигенсвязывающая молекула ковалентно модифицирована путем включения одного или более присоединенных водорастворимых полимеров, включая, не ограничиваясь перечисленным, полиэтиленгликоль, полиоксиэтиленгликоль или полипропиленгликоль.

[162] Аналоги пептидов обычно используются в фармацевтической промышленности в качестве непептидных лекарственных средств со свойствами, аналогичными свойствам исходного пептида. Эти типы непептидных соединений называются «миметиками пептидов» или «пептидомиметиками». Fauchere, J. L., Adv. Drug Res., 1986, 15, 29; Veber, D. F. & Freidinger, R. M., Trends in Neuroscience, 1985, 8, 392-396; и Evans, B. E., et al., J. Med. Chem., 1987, 30, 1229-1239, которые включены в настоящий документ посредством ссылки для любых целей.

[163] Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству клеток CAR-B, которые, как определено, вызывают терапевтический ответ у млекопитающего. Такие терапевтически эффективные количества легко определяются специалистом в данной области техники.

[164] Термины «пациент» и «субъект» используются взаимозаменяемо и включают людей и животных, отличных от людей, а также лиц с официально диагностированными расстройствами, лиц без официально признанных расстройств, лиц, получающих медицинскую помощь, лиц с риском развития расстройств и т. д.

[165] Термины «лечить» и «лечение» включают терапевтическое лечение, профилактическое лечение и применения, при которых снижается риск развития у субъекта расстройства или другого фактора риска. Лечение не требует полного излечения расстройства и включает варианты осуществления, в которых уменьшают симптомы или лежащие в основе факторы риска. Термин «предотвращать» не требует 100% исключения возможности события. Скорее, он означает, что вероятность возникновения события была снижена в присутствии соединения или способа.

[166] Для рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов, культуры и трансформации тканей могут быть использованы стандартные методы (например, электропорация, липофекция). Ферментативные реакции и способы очистки могут быть выполнены в соответствии с рекомендациями производителя или в соответствии с обычными способами, применяемыми в данной области техники, или описанными в настоящем документе. Вышеуказанные методы и процедуры могут быть, как правило, выполнены в соответствии с обычными способами, хорошо известными в данной области техники и описанными в различных общих и более конкретных источниках, которые цитируются и обсуждаются в настоящем описании. См., например, источник Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), который включен в настоящий документ посредством ссылки для любых целей.

5. Последовательности

[167] Следующие последовательности дополнительно иллюстрируют изобретение:

Трансмембранный домен CD28 - мышинный

(SEQ ID NO: 1)

TTCTGGGCCCTTGTGGTGGTTGCCGGAGTGCTGTTTTGCTATGGGCTCCTGGT
TACCGTTGCCCTTTGTGTGATTTGGACC

Трансмембранный домен CD28 - мышинный

(SEQ ID NO: 2)

FWALVVVAGVLFYGLLVTVALCVIWT

Трансмембранный домен CD28 - человеческий

(SEQ ID NO: 3)

TTTTGGGTATTGGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGT
AACAGTGGCTTTTATCATCTTTTGGGTG

Трансмембранный домен CD28 - человеческий

(SEQ ID NO: 4)

FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV

Цитоплазматический домен CD19 - человеческий

(SEQ ID NO: 5)

CAGCGGGCTTTAGTCTTGCGGCGTAAACGTAAAAGAATGACAGATCCAACTC
GCAGGTTCTTCAAAGTGACCCCCCACCTGGGTCCGGACCGCAGAACCAATATGGG
AATGTCCTGTCTCTGCCTACGCCTACAAGTGGACTGGGTAGGGCTCAGAGGTGGGCT

GCCGGTCTCGGCGGAACCTGCGCCATCTTACGGAAATCCCTCCTCCGACGTTTCAGGCA
 GACGGGGCCCTGGGGTCTCGATCCCCGCCTGGTGTTGGACCAGAAGAGGAAGAGGG
 CGAGGGCTACGAAGAGCCCGACTCCGAAGAGGACAGTGAGTTTTACGAGAACGACA
 GCAACCTGGGGCAGGATCAGCTGTCACAGGATGGCTCAGGATATGAAAACCCTGAG
 GACGAGCCTTTGGGGCCTGAAGATGAGGACTCCTTTTCTAATGCAGAGTCATATGAG
 AATGAGGACGAAGAATTGACTCAACCCGTGGCAAGAACAATGGATTTTCCTCAGTCC
 ACACGGGAGTGCATGGGACCCCTCCAGAGAGGCTACTAGCCTCGGTTCTCAAAGCT
 ATGAGGACATGAGGGGTATTCTGTACGCAGCGCCTCAGTTGAGGTCCATCCGCGGC
 CAGCCAGGCCCAAACCATGAGGAAGATGCCGATTCTTACGAAAACATGGACAACCC
 CGATGGTCCTGACCCCGCATGGGGGGGCGGCGGGAGGATGGGCACCTGGTCTACTC
 GC

Цитоплазматический домен CD19 - человеческий

(SEQ ID NO: 6)

QRALVLRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRW
 AAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEEGEGYEEDSEEDSEFYENDSN
 LGQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVAR TMDFLSPHGSA
 WDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPA
 WGGGGRMGTWSTR

Цитоплазматический домен CD40 - человеческий

(SEQ ID NO: 7)

AAGAAGGTTGCAAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAAGCAAGAGC
 CCCAAGAAATTAACCTTTCCCGATGATCTTCCGGGTCTAACACGGCAGCCCCGGTGC
 AGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCACTCAGGAGGACGGGAAAGAGTCTCGT
 ATCTCCGTCCAGGAGAGACAG

Цитоплазматический домен CD40 - человеческий

(SEQ ID NO: 8)

KKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKES
 RISVQERQ

Цитоплазматический домен CD40+CD79b - человеческий

(SEQ ID NO: 9)

AAGAAGGTTGCAAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAAGCAAGAGC
 CCCAAGAAATTAACCTTTCCCGATGATCTTCCGGGTCTAACACGGCAGCCCCGGTGC
 AGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCACTCAGGAGGACGGGAAAGAGTCTCGT
 ATCTCCGTCCAGGAGAGACAGGACAAGGACGATAGTAAAGCAGGGATGGAGGAGG
 ACCATACATACGAGGGACTGGATATCGATCAGACAGCCACGTACGAAGACATTGTG
 AACTGAGAACTGGCGAGGTGAAGTGGTCAGTGGGAGAACATCCGGGGCAGGAA

Цитоплазматический домен CD40+CD79b - человеческий

(SEQ ID NO: 10)

KKVAKKPTNK APHPKQEPQE INFPDDLPGS NTAAPVQETL HGCQPVTQED
 GKESRISVQE RQDKDDSKAG MEEDHTYEGL DIDQTATYED IVTLRTGEVK

WSVGEHPGQE

Цитоплазматический домен CD40+CD137 - человеческий

(SEQ ID NO: 11)

AAGAAGGTTGCAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAAGCAAGAGC
CCCAAGAAATTAACCTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGCCCCGGTGC
AGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCACTCAGGAGGACGGGAAAGAGTCTCGT
ATCTCCGTCCAGGAGAGACAGAAAAGAGGCCGAAAAAAGCTGCTGTACATCTTCAA
ACAACCCTTCATGCGACCTGTTTCAGACGACACAGGAGGAGGACGGCTGCAGCTGTA
GGTTTCCCGAAGAAGAGGAGGGAGGATGCGAACTT

Цитоплазматический домен CD40+CD137 - человеческий

(SEQ ID NO: 12)

KKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKES
RISVQERQKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL

Цитоплазматический домен CD137 - человеческий

(SEQ ID NO: 13)

AAAAGAGGCCGAAAAAAGCTGCTGTACATCTTCAAACAACCCTTCATGCGAC
CTGTTTCAGACGACACAGGAGGAGGACGGCTGCAGCTGTAGGTTTCCCGAAGAAGAG
GAGGGAGGATGCGAACTT

Цитоплазматический домен CD137 - человеческий

(SEQ ID NO: 14)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL

Цитоплазматический домен CD40 и рецептора Fc гамма 2a - человеческий

(SEQ ID NO: 15)

AAGAAGGTTGCAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAAGCAAGAGC
CCCAAGAAATTAACCTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGCCCCGGTGC
AGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCACTCAGGAGGACGGGAAAGAGTCTCGT
ATCTCCGTCCAGGAGAGACAGCGCAAAAAACGTATAAGCGCAAACCTCTACAGATCC
AGTAAAAGCCGCGCAATTTCGAGCCTCCCGGCCGCCAGATGATTGCAATACGGAAAC
GTCAACTGGAGGAACTAATAATGACTATGAGACGGCCGACGGTGGATACATGACC
CTTAATCCCCGCGCGCCAACCGACGATGATAAGAACATATATCTGACGCTCCCCCT
AACGATCACGTTAACAGTAATAAT

Цитоплазматический домен CD40 и рецептора Fc гамма 2a - человеческий

(SEQ ID NO: 16)

KKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKES
RISVQERQRRKRISANSTDPVKAAQFEPGRQMIAIRKRQLEETNNDYETADGGYMTLN
PRAPTDDDKNIYLTLPNDHVNNSNN

Цитоплазматический домен рецептора Fc гамма 2a - человеческий

(SEQ ID NO: 17)

CGCAAAAAACGTATAAGCGCAAACCTCTACAGATCCAGTAAAAGCCGCGCAA
TTCGAGCCTCCCGGCCGCCAGATGATTGCAATACGGAAACGTCAACTGGAGGAAAC

TAATAATGACTATGAGACGGCCGACGGTGGATACATGACCCTTAATCCCCGCGCGC
CAACCGACGATGATAAGAACATATATCTGACGCTCCCCCCTAACGATCACGTTAACA
GTAATAAT

Цитоплазматический домен рецептора Fc гамма 2a - человеческий

(SEQ ID NO: 18)

RKKRISANSTDPVKAAQFEPPGRQMIAIRKRQLEETNNDYETADGGYMTLNPR
PTDDDKNIYLTLPNDHVNSNN

Цитоплазматический домен Myd88+CD40 - человеческий

(SEQ ID NO: 19)

ATGGCGGCGGGCGGGCCCCGGCGCCGGAAGCGCCGCGCCAGTCTCATCTACGT
CCAGTCTGCCACTGGCTGCCCTGAACATGAGAGTGAGACGCCGTTTATCCCTCTTCC
TGAATGTGCGGACCCAGGTCGCCGCTGATTGGACCGCCCTGGCCGAAGAGATGGAC
TTTGAATACTTGGAATCAGACAGCTGGAAACACAGGCAGACCCAACCGGGAGACT
GCTTGACGCCTGGCAGGGACGCCCAGGGGCAAGTGTTGGTCGGTTACTGGAGCTTTT
AACTAAGTTGGGCCGCGATGACGTGCTGTTGGAGTTAGGACCCAGTATCGAGGAGG
ATTGTCAGAAATACATCTTGAAACAGCAGCAGGAGGAGGCGGAAAAGCCCCTGCAG
GTGGCGGCCGTTGACAGCAGTGTACCCAGAACAGCTGAGCTGGCCGGCATCACAAC
CCTGGATGATCCCCTGGGCCACATGCCTGAGAGGTTTCGACGCTTTCATAAAGAAGGT
TGCAAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAAGCAAGAGCCCCAAGAAATTA
ACTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGCCCCGGTGCAGGAGACCCTGC
ATGGTTGTCAACCCGTCACCTCAGGAGGACGGGAAAGAGTCTCGTATCTCCGTCCAG
GAGAGACAG

Цитоплазматический домен Myd88+CD40 - человеческий

(SEQ ID NO: 20)

MAAGGPGAGSAAPVSSTSSLPLAALNMRVRRRLSLFLNVRTQVAADWTALAE
MDFEYLEIRQLETQADPTGRLLDAWQGRPGASVGRLLLELLTKLGRDDVLLELGPSIEED
CQKYILKQQQEAEKPLQVAAVDSSVPRTAELAGITTLDDPLGHMPERFDAFIKKVAKK
PTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQ

Цитоплазматический домен Myd88 - человеческий

(SEQ ID NO: 21)

ATGGCGGCGGGCGGGCCCCGGCGCCGGAAGCGCCGCGCCAGTCTCATCTACGT
CCAGTCTGCCACTGGCTGCCCTGAACATGAGAGTGAGACGCCGTTTATCCCTCTTCC
TGAATGTGCGGACCCAGGTCGCCGCTGATTGGACCGCCCTGGCCGAAGAGATGGAC
TTTGAATACTTGGAATCAGACAGCTGGAAACACAGGCAGACCCAACCGGGAGACT
GCTTGACGCCTGGCAGGGACGCCCAGGGGCAAGTGTTGGTCGGTTACTGGAGCTTTT
AACTAAGTTGGGCCGCGATGACGTGCTGTTGGAGTTAGGACCCAGTATCGAGGAGG
ATTGTCAGAAATACATCTTGAAACAGCAGCAGGAGGAGGCGGAAAAGCCCCTGCAG
GTGGCGGCCGTTGACAGCAGTGTACCCAGAACAGCTGAGCTGGCCGGCATCACAAC
CCTGGATGATCCCCTGGGCCACATGCCTGAGAGGTTTCGACGCTTTCATA

Цитоплазматический домен Myd88 - человеческий

(SEQ ID NO: 22)

MAAGGPGAGSAAPVSSTSSLPLAALNMRVRRRLSLFLNVRTQVAADWTALAEEMDFEYLEIRQLETQADPTGRLLDAWQGRPGASVGRLLELLTKLGRDDVLLELGPSIEEDCQKYILKQQQEEAEKPLQVAAVDSSVPRTAELAGITTLDPLGHMFERFDAFI

Цитоплазматический домен CD79a - человеческий

(SEQ ID NO: 23)

AGGAAACGATGGCAGAACGAGAAGCTCGGGTTGGATGCCGGGGATGAATATGAAGATGAAAACCTTTATGAAGGCCTGAACCTGGACGACTGCTCCATGTATGAGGACATCTCCCGGGGCCTCCAGGGCACCTACCAGGATGTGGGCAGCCTCAACATAGGAGATGTCCAGCTGGAGAAGCCG

Цитоплазматический домен CD79a - человеческий

(SEQ ID NO: 24)

RKRWQNEKLGLDAGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGTYQDVGSLNIGDVQLEKP

Цитоплазматический домен CD79b - человеческий

(SEQ ID NO: 25)

CTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGGCATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGACATAGTGACGCTGCGGACAGGGAAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGAG

Цитоплазматический домен CD79b - человеческий

(SEQ ID NO: 26)

LDKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

Шарнирный домен CD8 - человеческий

(SEQ ID NO: 27)

TTCGTGCCTGTGTTCCCTCCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCCCCGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTG CAGGCCCCGCCGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGAC

Шарнирный домен CD8 - человеческий

(SEQ ID NO: 28)

FVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

Спейсер с 3X strep II-меткой

(SEQ ID NO: 29)

GGCGCTGGTAGTGGCGGTA ACTGGAGCCACCCTCAATTTGAGAAGGGCGGGT CAGGCGGATCAGGTGGTAGTGGTGGGTCCA ACTGGAGCCATCCGCAATTTGAAAAG GGCGGAAGCGGCGGTTC CGGCGGTT CAGGCGGTAGCAACTGGTCACATCCGCAATT TGAGAAAGGCGGGTCAGGCGGCGGG

Спейсер с 3X strep II-меткой

(SEQ ID NO: 30)

GAGSGGNWSHPQFEKGGSGGSGGSGGSGGNWSHPQFEKGGSGGSGGSGGSGGNWSHP QFEKGGSGGG

Fc IgG1 человека (трансмембранная форма)

(SEQ ID NO: 31)

CCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGC
TGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGA
TCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCA
GAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA
GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGC
TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCC
CTGCCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCC
CCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCC
TGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGG
CAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCA
ACGTGTTTCACTGTCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG
AGCCTGAGCCTGTCCCCCGAGCTGCAACTGGAGGAGAGCTGTGCGGAGGCGCAGGA
CGGGGAGCTGGACGGGCTGTGGACGACCATCACCATCTTCATCACACTCTTCTCTGT
AAGCGTGTGCTACAGTGCCACCGTCACCTTCTTCAAGGTGAAGTGGATCTTCTCCTC
GGTGGTGGACCTGAAGCAGACCATCATCCCCGACTACAGGAACATGATCGGACAGG
GGGCCTGA

Fc IgG1 человека (трансмембранная форма)

(SEQ ID NO: 32)

PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
ELEESCAEAQDGLDGLWTTITIFITLFLSVCYSATVTFFKVKWIFSSVVDLKQTIIPDYR
NMIGQGA

scFv анти-PSMA человека

(SEQ ID NO: 33)

GAGGTTCAACTTGTTCATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAACCTCAGCTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAACCTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
GGTAAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTCGGAACCTGCTGTA
GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAACCTGATTT

TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAA

scFv анти-PSMA человека

(SEQ ID NO: 34)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKTSGYTFT EYTIHWVRQA PGQSLEWMGN
INPNNGGTTY NQKFQGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW
NFDYWQGTL VTVSSGKPGS GKPGSGKPGS GKPGSDIVMT QSPDSLAVSL
GERATLSCRA SQDVGTAVDW YQQKPDQSPK LLIYWASTRH TGVPRDFTGS
GSGTDFTLTI SSLQAEDVAV YFCQQYNSYP LTFGAGTKVE IK

scFv анти-саркогликан

(SEQ ID NO: 35)

GAAGTCCAATTGGTTGAAAGCGGTGGTGGACTCGTCAAACCTGGCGGTAGCC
TTAAACTTTCATGTGCCGCAAGCGGCTTCACGTTTAGTAACTATGCTATGAGTTGGG
TCCGCCAAAGTCCAGAAAAGCGCCTCGAATGGGTGGCGGAGATCTCTGGAGGAGGA
ACATATACATATTATCCAGACACCATGACCGGTAGGTTTACAATCTCAAGAGACAAC
GCTAAGAACACCCTGTACCTGGAAATGTCAAGCCTGAGATCAGAAGATACGGCCAT
GTATTATTGTACGCGCCTACTCGACTATTGGGGTCAAGGAACTTCCGTGACGGTGTC
AAGCGGAGGAGGTGGGAGCGGAGGAGGCGGAAGTGGCGGTGGTGGCTCTGGTGGC
GGTGAAGTGATATAGTGATGACGCAAGCTGCCTTTTCAAACCCTGTTACTTTGGGG
ACTAGCGCATCAATCTCCTGTAGGTCCAGCAAATCTTTGCTGCACAGTAATGGAATC
ACCTATCTTTTCTGGTATTTGCAAAAGCCTGGGCAGAGCCCGCAACTGCTGATCTAT
CAAATGTCAAATCTTGCTTCCGGAGTTCCAGACCGCTTCTCAAGTTCCGGGTCCGGC
ACTGATTTTACCTTGAGAATTTCTAGGGTTCGAAGCTGAAGACGTCGGTGTCTATTAT
TGC GCGCAAAACCTTGAGCTTCCATACACCTTCGGGGGGGGGCACAAAACCTTGAGAT
CAAG

scFv анти-саркогликан

(SEQ ID NO: 36)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQSPDKRLEWVAEISGG
GTYTYYPDTMTGRFTISRDNKNTLYLEMSSLRSED TAMYCYTRLLDYWGQGTSTVTS
SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSNGITYLF
WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLA SGVPRDFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLE
LPYTFGGGTKEIK

scFv анти-GPC3 человека

(SEQ ID NO: 37)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCT

AGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGAT
 GGCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
 TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
 TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
 AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
 TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
 TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
 CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCGCTGCA

scFv анти-GPC3 человека

(SEQ ID NO: 38)

QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNL
 PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ
 APGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 RTSYLNHGDIYWGQGTLLTVSSAAA

pWF-82

(SEQ ID NO: 39)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCACTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTCGGAAGTGTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAAGTGTATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
 GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCCACGCC
 CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCCG
 CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
 GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
 CATCTTTTGGGTGCAGCGGGCTTTAGTCTTGCGGCGTAAACGTAAAAGAATGACAGA
 TCCAACCTCGCAGGTTCTTCAAAGTGACCCCCCACCTGGGTCCGGACCGCAGAACCA
 ATATGGGAATGTCCTGTCTCTGCCTACGCTACAAGTGGACTGGGTAGGGCTCAGAG
 GTGGGCTGCCGGTCTCGGCGGAAGTGCGCCATCTTACGGAAATCCCTCCTCCGACGT
 TCAGGCAGACGGGGCCCTGGGGTCTCGATCCCCGCCTGGTGTGGACCAGAAGAGG
 AAGAGGGCGAGGGCTACGAAGAGCCCGACTCCGAAGAGGACAGTGAGTTTTACGA

GAACGACAGCAACCTGGGGCAGGATCAGCTGTACAGGATGGCTCAGGATATGAAA
 ACCCTGAGGACGAGCCTTTGGGGCCTGAAGATGAGGACTCCTTTTCTAATGCAGAGT
 CATATGAGAATGAGGACGAAGAATTGACTCAACCCGTGGCAAGAACAATGGATTTC
 CTCAGTCCACACGGGAGTGCATGGGACCCCTCCAGAGAGGCTACTAGCCTCGGTTCT
 CAAAGCTATGAGGACATGAGGGGTATTCTGTACGCAGCGCCTCAGTTGAGGTCCAT
 CCGCGGCCAGCCAGGCCCAAACCATGAGGAAGATGCCGATTCTTACGAAAACATGG
 ACAACCCCGATGGTCCTGACCCCGCATGGGGGGGCGGCGGGAGGATGGGCACCTGG
 TCTACTCGCTAG

pWF-82

(SEQ ID NO: 40)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKTSGYTFT EYTIHWVRQA PGQSLEWMGN
 INPNNGGTTY NQKFQGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW
 NFDYWQGQTL VTVSSGKPGS GKPGSGKPGS GKPGSDIVMT QSPDSLAVSL
 GERATLSCRA SQDVGTAVDW YQQKPDQSPK LLIYWASTRH TGVPDRFTGS
 GSGTDFTLTI SSLQAEDVAV YFCQQYNSYP LTFGAGTKVE IKFVPVFLPA
 KPTTTPAPRP PTPAPTIASQ PLSLRPEACR PAAGGAVHTR GLDFACDFWV
 LVVVGGVLAC YSLLVTVAFI IFWVQRALVL RRRKRKRMTDP TRRFFKVTTP
 PGSGPQNQYG NVLSLPTPTS GLGRAQRWAA GLGGTAPSYG NPSSDVQADG
 ALGSRSPPGV GPEEEEGEGY EEPDSEEDSE FYENDSNLGQ DQLSQDGSYG
 ENPEDEPLGP EDEDSFSNAE SYENEDEELT QPVARTMDFL SPHGSAWDPS
 REATSLGSQS YEDMRGILYA APQLRSIRGQ PGPNHEEDAD SYENMDNPDG
 PDPAWGGGGR MGTWSTR-

pWF-83

(SEQ ID NO: 41)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCACTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTCGGAAGTGTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAAGTGTGTA
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
 GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCC
 CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGC
 CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT

GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
 CATCTTTTGGGTGCTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGGCATGGAGGAAGATCACA
 CCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGACATAGTGACGCTG
 CGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGAGTGA

pWF-83

(SEQ ID NO: 42)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKTSGYTFT EYTIHWVRQA PGQSLEWMGN
 INPNNGGTTY NQKFQGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW
 NFDYWQGTL VTVSSGKPGS GKPGSGKPGS GKPGSDIVMT QSPDSLAVSL
 GERATLSCRA SQDVGTAVDW YQQKPDQSPK LLIYWASTRH TGVPDRFTGS
 GSGTDFTLTI SSLQAEDVAV YFCQQYNSYP LTFGAGTKVE IKFVPVFLPA
 KPTTTPAPRP PTPAPTIASQ PLSLRPEACR PAAGGAVHTR GLDFACDFWV
 LVVVGGLVAC YSLLVTVAFI IFWVLDKDDS KAGMEEDHTY EGLDIDQTAT
 YEDIVTLRTG EVKWSVGEHP GQE-

pWF-84:

(SEQ ID NO: 43)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCAAGCTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTGCGAACTGCTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAACTGATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTCCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
 GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCC
 CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGC
 CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
 GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
 CATCTTTTGGGTGAAGAAGGTTGCAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAA
 GCAAGAGCCCCAAGAAATTAAGTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGC
 CCCGGTGCAGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCCTCAGGAGGACGGGAAAG
 AGTCTCGTATCTCCGTCCAGGAGAGACAGGACAAGGACGATAGTAAAGCAGGGATG
 GAGGAGGACCATACATACGAGGGACTGGATATCGATCAGACAGCCACGTACGAAG
 ACATTGTGACACTGAGAAGTGGCGAGGTGAAGTGGTCAGTGGGAGAACATCCGGGG
 CAGGAATAA

pWF-84:

(SEQ ID NO: 44)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKTSGYTFT EYTIHWVRQA PGQSLEWMGN
 INPNNGGTTY NQKFQGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW
 NFDYWQGQTL VTVSSGKPGS GKPGSGKPGS GKPGSDIVMT QSPDSLAVSL
 GERATLSCRA SQDVGTAVDW YQQKPDQSPK LLIYWASTRH TGV PDRFTGS
 GSGTDFTLTI SSLQAEDVAV YFCQQYNSYP LTFGAGTKVE IKFVPVFLPA
 KPTTTPAPRP PTPAPTIASQ PLSLRPEACR PAAGGAVHTR GLDFACDFWV
 LVVVGGLVAC YSLLVTVAFI IFWVKKVAKK PTNKAPHPKQ EPQEINFPDD
 LPGSNTAAPV QETLHGCQPV TQEDGKESRI SVQERQDKDD SKAGMEEDHT
 YEGLDIDQTA TYEDIVTLRT GEVKWSVGEH PGQE-

pWF-85:

(SEQ ID NO: 45)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCACTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCTGGGCCTCTCAGGATGTCGGAAGTGTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTTACAGGTAGTGGCAGTGGAAGTGTATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
 GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCC
 CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGC
 CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
 GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
 CATCTTTTGGGTGAAGAAGGTTGCAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAA
 GCAAGAGCCCCAAGAAATTAAGTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGC
 CCCGGTGCAGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCCTCAGGAGGACGGGAAAG
 AGTCTCGTATCTCCGTCCAGGAGAGACAGAAAAGAGGCCGAAAAAAGCTGCTGTAC
 ATCTTCAAACAACCCTTCATGCGACCTGTTTACAGACGACACAGGAGGAGGACGGCTG
 CAGCTGTAGGTTTCCCGAAGAAGAGGAGGGAGGATGCGAACTTTAA

pWF-85:

(SEQ ID NO: 46)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKTSGYTFT EYTIHWVRQA PGQSLEWMGN
 INPNNGGTTY NQKFQGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW

NFDYWGQGT L VTVSSGKPGS GKPGSGKPGS GKPGSDIVMT QSPDSLAVSL
 GERATLSCRA SQDVGTAVDW YQQKPDQSPK LLIYWASTRH TGVPDRFTGS
 GSGTDFTLTI SSLQAEDVAV YFCQQYNSYP LTFGAGTKVE IKFVPVFLPA
 KPTTTTPAPRP PTPAPTASQ PLSLRPEACR PAAGGAVHTR GLDFACDFWV

LVVVGGVLAC YSLLVTVAFI IFWVKKVAKK PTNKAPHPKQ EPQEINFPDD
 LPGSNTAAPV QETLHGCQPV TQEDGKESRI SVQERQKRGR KKLLYIFKQP
 FMRPVQTTQE EDGCSCRFPE EEEGGCEL-

pWF-86

(SEQ ID NO: 150)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAACCTCAGCTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAACCTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTCGGAACCTGCTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAACCTGATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
 GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCCACGCC
 CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCCG
 CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
 GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
 CATCTTTTGGGTGAAGAAGGTTGCAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAA
 GCAAGAGCCCCAAGAAATTAACCTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGC
 CCCGGTGCAGGAGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCCTCAGGAGGACGGGAAAG
 AGTCTCGTATCTCCGTCCAGGAGAGACAGCGCAAAAAACGTATAAGCGCAAACTCT
 ACAGATCCAGTAAAAGCCGCGCAATTCGAGCCTCCCGGCCGCGCAGATGATTGCAAT
 ACGGAAACGTCAACTGGAGGAACTAATAATGACTATGAGACGGCCGACGGTGGAT
 ACATGACCCTTAATCCCCGCGCGCCAACCGACGATGATAAGAACATATATCTGACG
 CTCCCCCTAACGATCACGTTAACAGTAATAATTAA

pWF-86:

(SEQ ID NO: 47)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKTSGYTFT EYTIHWVRQA PGQSLEWMGN
 INPNNGGTTY NQKFQGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAAGW
 NFDYWGQGT L VTVSSGKPGS GKPGSGKPGS GKPGSDIVMT QSPDSLAVSL
 GERATLSCRA SQDVGTAVDW YQQKPDQSPK LLIYWASTRH TGVPDRFTGS

GSGTDFTLTI	SSLQAEDVAV	YFCQQYNSYP	LTFGAGTKVE	IKFVPVFLPA
KPTTTPAPRP	PTPAPTIASQ	PLSLRPEACR	PAAGGAVHTR	GLDFACDFWV
LVVVGGLVAC	YSLLVTVAFI	IFWVKKVAKK	PTNKAPHPKQ	EPQEINFPDD
LPGSNTAAPV	QETLHGCQPV	TQEDGKESRI	SVQERQRKKR	ISANSTDPVK
AAQFEPPGRQ	MIAIRKRQLE	ETNNDYETAD	GGYMTLNPRA	PTDDDKNIYL

TLPPNDHVNS NN-

pWF-87:

(SEQ ID NO: 48)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCACTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
GGTAAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCTGGGCCTCTCAGGATGTCGGAAGTGTCTGTA
GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAACTGATTT
TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
GCCTGTGTTCTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCC
CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGC
CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
CATCTTTTGGGTGATGGCGGCGGGCGGGCCCGGCCGGAAGCGCCGCGCCAGTCT
CATCTACGTCCAGTCTGCCACTGGCTGCCCTGAACATGAGAGTGAGACGCCGTTTAT
CCCTCTTCCTGAATGTGCGGACCCAGGTCGCCGCTGATTGGACCGCCCTGGCCGAAG
AGATGGACTTTGAATACTTGGAATCAGACAGCTGGAAACACAGGCAGACCCAACC
GGGAGACTGCTTGACGCCTGGCAGGGACGCCAGGGGCAAGTGTTGGTTCGGTTACT
GGAGCTTTTAAGTTGGGCGCGATGACGTGCTGTTGGAGTTAGGACCCAGTAT
CGAGGAGGATTGTCAGAAATACATCTTGAAACAGCAGCAGGAGGAGGCGGAAAAG
CCCCTGCAGGTGGCGGCCGTTGACAGCAGTGTACCCAGAACAGCTGAGCTGGCCGG
CATCACAACCCTGGATGATCCCCTGGGCCACATGCCTGAGAGGTTTCGACGCTTTCAT
AAAGAAGGTTGCAAAAAACCTACTAATAAGGCTCCCCATCCTAAGCAAGAGCCCC
AAGAAATTAAGTTTCCCGATGATCTTCCGGGTTCTAACACGGCAGCCCCGGTGCAGG
AGACCCTGCATGGTTGTCAACCCGTCACTCAGGAGGACGGGAAAGAGTCTCGTATC
TCCGTCCAGGAGAGACAGTGA

pWF-87:

(SEQ ID NO: 49)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINP
 NNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGQTL
 VTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATLSCRASQDVGTAVD
 WYQQKPDQSPKLLIWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQYNS
 YPLTFGAGTKVEIKFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
 RGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVMAAGGPGAGSAAPVSSTSSLPLA
 ALNMRVRRRLSLFLNVRTQVAADWTALAEEMDFEYLEIRQLETQADPTGRLLDAWQG
 RPGASVGRILLELTKLGRDDVLLELGPSIEEDCQKYILKQQQEEAEKPLQVAAVDSSVPR
 TAELAGITTLDDPLGHMPERFDAFIKKVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAP
 VQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQ-

pWF-88:

(SEQ ID NO: 50)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCACTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCTGGGCCTCTCAGGATGTCTGGAAGTGTCTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTTAGTGGCAGTGGAACTGATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
 GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCC
 CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGC
 CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
 GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
 CATCTTTTGGGTGAGGAAACGATGGCAGAACGAGAAGCTCGGGTTGGATGCCGGGG
 ATGAATATGAAGATGAAAACCTTTATGAAGGCCTGAACCTGGACGACTGCTCCATG
 TATGAGGACATCTCCCGGGGCCTCCAGGGCACCTACCAGGATGTGGGCAGCCTCAA
 CATAGGAGATGTCCAGCTGGAGAAGCCGTGA

pWF-88:

(SEQ ID NO: 51)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINP
 NNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGGQTL
 VTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATLSCRASQDVGTAVD
 WYQQKPDQSPKLLIWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQYNS
 YPLTFGAGTKVEIKFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT

RGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENL
YEGLNLDDCSMYEDISRGLQGTYQDVGSLNIGDVQLEKP-

pWF-89:

(SEQ ID NO: 52)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCAAGCTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAAGTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
GGTAAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTCGGAAGTGTCTGA
GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAACTGATTT
TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAATTCGT
GCCTGTGTTCTCCAGCTAAGCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCC
CGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGC
CGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATT
GGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTAT
CATCTTTTGGGTGCTGGACAAGGATGACAGCAAGGCTGGCATGGAGGAAGATCACA
CCTACGAGGGCCTGGACATTGACCAGACAGCCACCTATGAGGACATAGTGACGCTG
CGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGAGTGA

pWF-89:

(SEQ ID NO: 53)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINP
NNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGGTL
VTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATLSCRASQDVGTAVD
WYQQKPDQSPKLLIWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQYNS
YPLTFGAGTKVEIKFVFPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
RGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVLDKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQ
TATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

pWF-391:

(SEQ ID NO: 54)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
GGCGGAACCACATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAAGTCAAGCTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT

TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAACCTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTCGGGCCTCTCAGGATGTCGGAAGTGTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTCACACAGGAGTGCCAGATAGGTTTACAGGTAGTGGCAGTGGAAGTGAATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTTCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAAGGCG
 CTGGTAGTGGCGGTAAGTGGAGCCACCCTCAATTTGAGAAGGGCGGGTCAGGCGGA
 TCAGGTGGTAGTGGTGGGTCCAACTGGAGCCATCCGCAATTTGAAAAGGGCGGAAG
 CGGCGGTTCCGGCGGTTTCAAGGCGGTAGCAACTGGTCACATCCGCAATTTGAGAAAG
 GCGGGTCAGGCGGCGGGTTTTGGGCTCTCGTGGTGGTGGCTGGAGTGCTTTTCTGCT
 ATGGCCTGCTGGTAACCGTGGCCCTTTGTGTAATCTGGACCGATAAAGACGATGGAA
 AAGCCGGGATGGAAGAAGACCATACCTACGAGGGGCTCAATATTGATCAAACCGCC
 ACGTATGAAGACATTGTAACACTGCGCACAGGTGAGGTCAAGTGGTCCGTCCGTGA
 ACACCCAGGACAAGAATAA

pWF-391:

(SEQ ID NO: 55)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINP
 NNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWQGTL
 VTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATLSCRASQDVGTAVD
 WYQQKPDQSPKLLIWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQYNS
 YPLTFGAGTKVEIKGAGSGGNWSHPQFEKGGSGGSGGSGGSGGNWSHPQFEKGGSGGSGG
 SGGSGNWSHPQFEKGGSGGGFWALVVVAGVLFYGLLVTVALCVIWDKDDGKAGME
 EDHTYEGLNIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

pWF-394:

(SEQ ID NO: 56)

GAAGTCCAATTGGTTGAAAGCGGTGGTGGACTCGTCAAACCTGGCGGTAGCC
 TTAAACTTTTCATGTGCCGCAAGCGGCTTCACGTTTAGTAACTATGCTATGAGTTGGG
 TCCGCCAAAGTCCAGAAAAGCGCCTCGAATGGGTGGCGGAGATCTCTGGAGGAGGA
 ACATATACATATTATCCAGACACCATGACCGGTAGGTTTACAATCTCAAGAGACAAC
 GCTAAGAACACCCTGTACCTGGAAATGTCAAGCCTGAGATCAGAAGATACGGCCAT
 GTATTATTGTACGCGCCTACTCGACTATTGGGGTCAAGGAACTTCCGTGACGGTGTC
 AAGCGGAGGAGGTGGGAGCGGAGGAGGCGGAAGTGGCGGTGGTGGCTCTGGTGGC
 GGTGGAAGTGATATAGTGATGACGCAAGCTGCCTTTTCAAACCTGTTACTTTGGGG
 ACTAGCGCATCAATCTCCTGTAGGTCCAGCAAATCTTTGCTGCACAGTAATGGAATC
 ACCTATCTTTTCTGGTATTTGCAAAAGCCTGGGCAGAGCCCGCAACTGCTGATCTAT
 CAAATGTCAAATCTTGCTTCCGGAGTTCCAGACCGCTTCTCAAGTTCCGGGTCCGGC
 ACTGATTTTACCTTGAGAATTTCTAGGGTTCGAAGCTGAAGACGTCGGTGTCTATTAT
 TCGCGCGCAAAACCTTGAGCTTCCATACACCTTCGGGGGGGGGCACAAAACCTTGAGAT

CAAGGGCGCTGGGAGCGGCGGGAATTGGAGTCATCCACAATTCGAAAAGGGTGGGT
 CCGGCGGCAGTGGTGGAAGCGGCGGGAGTAACTGGTCACATCCCCAGTTTGAGAAA
 GGCGGTAGTGGTGGCAGCGGCGGTAGTGGTGGCAGTAATTGGAGCCATCCCCAATT
 CGAAAAGGGCGGTTCCGGCGGCGGATTTTGGGCTCTTGTTGTGGTGGCCGGAGTATT
 GTTTTGCTATGGCCTGCTCGTTACAGTGGCATTGTGCGTAATTTGGACTGATAAAGA
 CGACGGCAAAGCCGGGATGGAAGAAGATCACACCTATGAGGGGCTTAATATAGATC
 AAACAGCCACATATGAAGATATTGTGACTCTAAGGACTGGAGAGGTTAAATGGAGT
 GTGGGTGAGCATCCAGGACAAGAATAA

pWF-394:

(SEQ ID NO: 57)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQSPPEKRLWVAEISGG
 GTYTYYPDTMTGRFTISRDNKNTLYLEMSLRSEDTAMYYCTRLLDYWGQTSVTVS
 SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHNSNGITYLF
 WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLAAGVPSDFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNL
 LPYTFGGGTKLEIKGAGSGGNWSHPQFEKGGSGSGSGSGSNWSHPQFEKGGSGSGG
 SGGSNWSHPQFEKGGSGGGFWALVAVAGVLCYGLLVTVVLCVIWTDKDDGKAGME
 EDHTYEGLNIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

pWF-396:

(SEQ ID NO: 58)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
 TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
 ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCAACTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
 CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
 GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
 TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCT
 AGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGAT
 GGCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
 TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
 TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
 AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
 TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
 TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
 CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCGCTGCATTCGTGCCTGTGTTCCCTCCAGCTAAGCC
 CACTACCACCCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCCCCGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCC
 TTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGCCGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAG
 GGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATTGGTAGTGGTGGGCGGAGTTTATAGC
 CTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTATCATCTTTTGGGTGAGGAAACGATG
 GCAGAACGAGAAGCTCGGGTTGGATGCCGGGGATGAATATGAAGATGAAAACCTTT
 ATGAAGGCCTGAACCTGGACGACTGCTCCATGTATGAGGACATCTCCCGGGGCTCC
 AGGGCACCTACCAGGATGTGGGCAGCCTCAACATAGGAGATGTCCAGCTGGAGAAG

CCGTGA

pWF-396:

(SEQ ID NO: 59)

QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNL
PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ
APGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RTSYLNHGDYWGQGT LVTVSSAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRKRWQNEKLGL
DAGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGT YQDVGSLNIGDVQLEKP

pWF-397:

(SEQ ID NO: 60)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCT
AGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGAT
GGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCGCTGCATTCGTGCCTGTGTTCCCTCCCAGCTAAGCC
CACTACCACCCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCCCCGCTCCTACTATTGCTAGTCAGCC
TTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGCCGCCGGCGGCGCTGTGCACACCAG
GGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATTGGTAGTGGTGGGCGGAGTTTTAGC
CTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTATCATCTTTTGGGTGCTGGACAAGGA
TGACAGCAAGGCTGGCATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTGACC
AGACAGCCACCTATGAGGACATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTGGTCT
GTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGAGTGA

pWF-397:

(SEQ ID NO: 61)

QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNL
PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ
APGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
RTSYLNHGDYWGQGT LVTVSSAAAFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA

CRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVLDKDDSKAGME
EDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

pWF-460:

(SEQ ID NO: 62)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCT
AGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGAT
GGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
CTCTGGTGACCGTGTCTAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCT
GCCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTTCCCCCACAAGCCCA
AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTG
AGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA
CAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAA
GGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG
GCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACC
AAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCC
GTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCAGT
GCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA
GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTACGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC
CACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGAGCTGCAACTGGAGGAGAGCTG
TGCGGAGGGCGCAGGACGGGGAGCTGGACGGGCTGTGGACGACCATCACCATCTTCA
TCACACTCTTCTGTTAAGCGTGTGCTACAGTGCCACCGTCACCTTCTTCAAGGTGA
AGTGGATCTTCTCCTCGGTGGTGGACCTGAAGCAGACCATCATCCCCGACTACAGGA
ACATGATCGGACAGGGGGCCTGA

pWF-460:

(SEQ ID NO: 63)

QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNL
PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ
APGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA

RTSYLNHGDYWGQGLVTVSSPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPQLLEESCAEAQDGELDGLWTTITIFITLFLLSVCYSATVTFFKVK
WIFSSVVDLKQTIIPDYRNMIGQGA

pWF-428:

(SEQ ID NO: 64)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCA
GCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCCAAGC
CAACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCTACCCGGGAGCTGTGACAGT
GGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCAAACCCT
CCAAACAGAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCCGAG
CAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGT
GGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

pWF-428:

(SEQ ID NO: 65)

QSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNL
PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGQPK
ANPTVTFLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

pWF-429:

(SEQ ID NO: 66)

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCTCCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC
CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC
TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT
GCACACCTTCCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGAC

CCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTT
 GTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCT
 GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTG
 GACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACA
 GCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGC
 AAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGAC
 CATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCT
 CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTC
 TACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATA
 CAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCT
 GACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGATGC
 ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGAGCTG
 CAACTGGAGGAGAGCTGTGCGGAGGGCGCAGGACGGGGAGCTGGACGGGCTGTGGA
 CGACCATCACCATCTTCATCACACTCTTCCTGTTAAGCGTGTGCTACAGTGCCACCGT
 CACCTTCTTCAAGGTGAAGTGGATCTTCTCCTCGGTGGTGGACCTGAAGCAGACCAT
 CATCCCCGACTACAGGAACATGATCGGACAGGGGGCCTGA

pWF-429:

(SEQ ID NO: 67)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYS
 GGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQ
 GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPELQLEESCAEAQDGELDGL
 WTTITIFITLFLLSVCYSATVTFFKVKWIFSSVVDLQKTIIPDYRNMIGQGA-

CXCL13 мыши

(SEQ ID NO: 68)

ATGAGACTTTCAACAGCAACACTCCTCCTGTTGCTGGCTTCATGTCTGAGCCC
 TGGTCATGGTATTTTGGAGGCCCCACTATACAAATCTCAAATGTCGGTGTTCAGGCGT
 AATATCCACCGTAGTCGGCCTGAACATTATCGATAGGATTCAGGTTACACCCCCCGG
 GAACGGATGTCCTAAGACCGAGGTGGTGATTTGGACCAAGATGAAGAAGGTCATTT
 GTGTGAACCCACGGGCTAAATGGCTGCAGCGTCTTTTTCGACACGTGCAGTCCAAG
 AGCTTGTCCAGCACACCTCAGGCCCCAGTTAGCAAGCGACGTGCAGCC

CXCL13 мыши

(SEQ ID NO: 69)

MRLSTATLLLLLASCLSPGHGILEAHYTNLKCRCSGVISTVVGLNIIDRIQVTPPGN
 GCPKTEVVIWTKMKKVICVNPRAKWLQRLLRHVQSKSLSSTPQ APVSKRRAA

FLT3LG мыши

(SEQ ID NO: 70)

ATGACAGTGCTGGCCCCCGCGTGGTCTCCCAATAGCTCACTCCTCCTCTTGCT
GCTACTGCTCAGCCCATGCCTCAGGGGCACCCCCGATTGTTACTTCAGCCACAGCCC
AATCTCCTCCAACTTCAAAGTGAAATTTAGGGAACTGACCGACCACCTGCTGAAAG
ATTATCCTGTGACTGTGGCAGTGAACCTGCAAGACGAAAAGCATTGTAAGGCGCTA
TGGAGCCTCTTTCTTGCCCAACGATGGATTGAGCAACTCAAACTGTAGCCGGAAGC
AAAATGCAGACGCTACTGGAGGACGTGAATACTGAGATTCACTTCGTTACCAGTTGT
ACTTTCCAGCCACTGCCAGAGTGTCTCAGGTTTGTGCAGACTAATATCAGCCACCTG
CTGAAGGATACTTGCACCCAGCTCCTGGCTCTCAAGCCTTGTATAGGCAAGGCTTGT
CAAAATTTTAGCAGGTGTCTCGAAGTCCAGTGCCAGCCAGATTCATCCACACTGCTG
CCGCCCCGAAGCCCTATCGCACTCGAAGCGACAGAGTTGCCAGAGCCTCGTCCCAG
ACAGCTTCTGCTGCTGCTACTTCTGCTGCTGCCGCTAACTCTGGTGCTACTTGCTGCC
GCCTGGGGCCTCAGATGGCAACGCGCCAGACGCCGAGGCGAACTCCACCCTGGGGT
GCCACTGCCATCCCACCCA

FLT3LG мышцы

(SEQ ID NO: 71)

MTVLAPAWSPNSSLLLLLLLLSPCLRGTDCYFSHSPISSNFKVKFRELTDHLLKD
YPVTVAVNLQDEKHCKALWSLFLAQRWIEQLKTVAGSKMQTLLEDVNTEIHFVTSCTF
QPLPECLRFVQTNISHLLKDTCTQLLALKPCIGKACQNFRCLEVQCQPDSSTLLPPRSPI
ALEATELPEPRPRQLLLLLLLLLPLTLVLLAAAWGLRWQRARRRGELHPGVPLPS HP

XCL1 мышцы

(SEQ ID NO: 72)

ATGCGACTCTTGTTGTTGACTTTTCTCGGAGTGTGCTGCCTGACACCCTGGGT
CGTAGAGGGAGTTGGCACTGAAGTACTAGAAGAGTCCTCCTGCGTTAACCTGCAGA
CACAGCGGCTCCCAGTCCAGAAAATTAAGACCTACATTATATGGGAAGGAGCAATG
CGAGCGGTGATTTTTGTGACCAAGAGGGGTCTCAAGATTTGCGCGGACCCTGAGGC
CAAGTGGGTCAAAGCAGCTATTAAGACAGTAGACGGAAGAGCCTCCACCAGGAAG
AATATGGCAGAACTGTACCGACCGGTGCGCAGCGGTCAACATCTACCGCAATCAC
ACTCACCGGC

XCL1 мышцы

(SEQ ID NO: 73)

MRLLLLTFLGVCCLTPWVVEGVGTEVLEESSCVNLQTQRLPVQKIKTYIHWEGA
MRAVIFVTKRGLKICADPEAKWVKAAIKTVDGRASTRKNMAETVPTGAQRSTSTAI
TLTG

Tim4(ECD) мышцы-Fc IgG2a мышцы

(SEQ ID NO: 74)

ATGAGCAAGGGCCTTCTCCTGCTGTGGCTAGTAACTGAATTGTGGTGGTTGTA
CCTGACACCTGCCGCTAGTGAGGACACCATCATTGGTTTCCTTGGGCAGCCCGTCAC
CCTCCCTTGCCATTACCTAAGCTGGAGCCAGTCACGGAAGTCTATGTGCTGGGGAAA
GGGGTCATGCCCTAATTCCAAGTGCAACGCCGAGCTGTTGCGCACGGACGGCACCA

GAATAATCTCAAGAAAGTCCACCAAGTATACGCTGCTCGGCAAGGTGCAATTCGGT
 GAAGTGAGCTTGACCATAAGTAACACCAACCGCGGTGACTCCGGAGTTTATTGTTGC
 AGGATCGAAGTGCCAGGCTGGTTTAACGACGTGAAGAAAAACGTGCGGCTGGAAC
 GAGGAGGGCAACTACGACCAAGAAACCAACAACCACGACGAGACCTACCACCACT
 CCTTACGTGACAACCACGACACCGGAGCTGTTGCCAACTACCGTCATGACAACATCT
 GTGTTGCCAACTACCACCCCCCCCCAAACGCTCGCGACAACCTGCCTTTTCCACAGCC
 GTTACCACATGTCCTTCCACCACCCCAGGCTCTTTTTTCTCAAGAACTACCAAGGGA
 TCAGCTTTTACCACCGAGTCTGAAACTCTCCCAGCAAGTAATCACTCACAGCGGTCA
 ATGATGACCATCAGCACAGACATCGCTGTCTTGAGACCTACTGGCAGCAATCCAGG
 CATTCTGCCCTCCACTTCACAGCTGACTACCCAAAAGACTACACTAACCACCAGCGA
 AAGTCTGCAGAAAACCTACAAAGAGCCATCAAATAAACTCCCGGCAGACTCCCAGAG
 GGCCCAACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATGCCCAGCACCTAACCTCTTGGGTG
 GACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGA
 GCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAG
 ATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAG
 AGAGGATTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAAGG
 ACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCAGCG
 CCCATCGAGAGAACCATCTCAAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATA
 TGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCA
 TGGTCACAGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAA
 ACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTC
 ATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAAGTGGGTGGAAAGAAATAGCTACT
 CCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCC
 GGACTCCGGGTAAA

Tim4(ECD) мыши-Fc IgG2a мыши

(SEQ ID NO: 75)

MSKGLLLLWLVTTELWWLYLTPAASEDTIIGFLGQPVTLPCHYLSWSQSRNSMCW
 GKGSCPNSKCNALLRDTGTRIISRKSTKYTLLGKVQFGEVSLTISNTNRGDSGVYCCRIE
 VPGWFNDVKKNVRLELRRATTTKKPTTTTTPYVTTTTPELLPTTVMTTSVLPTTTP
 PQTLATTAFASTAVTTCPSSTPGSFSQETTKGSAFTTESETLPASNHSQRSMMTISTDIAVL
 RPTGSNPGILPSTSQLTTQKTTLTSESLLQKTTKSHQINSRQTPRGPTIKPCPPCKCPAPNL
 LGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHRE
 DYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP
 PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLR
 VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

4-1BB-L мыши

(SEQ ID NO: 76)

ATGGATCAGCATACACTGGACGTGGAAGATACAGCCGATGCCAGACACCCTG
 CTGGAACGTCTCTGTCCCAGCGACGCTGCCCTGCTCAGAGACACCGGGCTGCTCGCAG
 ATGCTGCTCTGCTGAGTGATACCGTTCGGCCAACTAACGCGGGCCCTACCCACAGATG

CCGCATATCCCGCGGTAAATGTCAGGGACCGGGAAGCTGCCTGGCCACCGGCCCTC
 AATTTCTGCTCTAGACATCCGAAACTGTACGGTCTGGTCGCACTGGTACTGCTGCTA
 CTTATAGCAGCTTGTGTTCCCATATTTACCCGCACTGAACCCAGACCCGCTCTCACTA
 TTACAACTTCACCAAACTTGGGCACACGTGAAAACAATGCAGATCAGGTTACCCCTG
 TAAGTCATATTGGATGCCCCAACACCACACAACAGGGAAGTCCGGTGTGCAAAA
 CTCCTTGCTAAGAATCAGGCTTCACTGTGTAACACTACTCTTAATTGGCACTCACAA
 GACGGGGCCGGGAGTAGCTATCTCAGCCAAGGTCTCCGCTATGAAGAAGATAAGAA
 AGAGTTGGTGGTGGACAGCCCAGGACTCTACTACGTCTTCCTGGAGCTAAACTAA
 GCCCCACTTTTACTAACACTGGACATAAGGTCCAAGGTTGGGTGTCCCTCGTACTTC
 AAGCTAAACCCAGGTGGACGACTTCGATAACCTGGCGTTGACAGTTGAGCTCTTTC
 CTTGCTCTATGGAAAATAAGCTCGTGGATCGGAGCTGGTCTCAACTGTTGCTGCTTA
 AAGCCGGTCATCGTCTGTCTGTTGGACTACGCGCATACTTGCATGGAGCCCAGGACG
 CATATCGTGATTGGGAACTGAGCTACCCGAATACCACTAGCTTTGGACTATTTCTTG
 TTAAACCAGATAATCCTTGGGAG

4-1BB-L мышцы

(SEQ ID NO: 77)

MDQHTLDVEDTADARHPAGTSCPSDAALLRDTGLLADAALLSDTVRPTNAALP
 TDAAYPAVNVRDREAAWPPALNFCSRHPKLYGLVALVLLLLIAACVPIFTRTEPRPALT
 TTSPNLGTRENNADQVTPVSHIGCPNTTQQGSPVFAKLLAKNQASLCNTTLNWHSQDG
 AGSSYLSQGLRYEEDKKELVVDSPGLYYVFLELKLSPTFTNTGHKVQGWVSLVLQAKP
 QVDDFDNLALTVELFPCSMENKLVDRSWSQLLLKAGHRLSVGLRAYLHGAQDAYRD
 WELSYPNNTTSFGLFLVKPDNPWE

LIGHT мышцы (мутант с отсутствием расщепления)

(SEQ ID NO: 78)

ATGGAGAGCGTAGTGCAACCCAGCGTATTTGTGGTGGATGGACAGACCGACA
 TCCCATTACAGACGCTTGGAACAGAACCACCGAAGAAGGCGGTGCGGCACCGTCCAG
 GTGTCCCTCGCTCTCGTGCTGCTGCTTGGTGCTGGCCTCGCAACACAAGGGTGGTTT
 CTTTTGAGACTCCATCAACGCTTGGGAGACATAGTGGCCACCTGCCTGATGGTGGG
 AAGGGCTCTTGGCAGGACCAGCGATCACACCAGGCTAACCCCGCCGCTCACCTGAC
 AGGGGCGAATGCCAGCTTGATCGGAATAGGTGGGCCGCTGCTGTGGGAACTAGGC
 TTGGACTIONGCTTTCTGAGAGGGCTTACATAACCATGACGGAGCCCTCGTAACAATGG
 AGCCTGGTTATTACTACGTGTACAGTAAGGTGCAGCTTTCTGGAGTCGGGTGTCCCC
 AGGGGCTGGCTAACGGACTGCCCATCACTCATGGACTATACAAACGCACATCCAGA
 TATCCTAAAGAGCTGGAAGTGTGGTGTCCCGTAGGAGCCCGTGTGGCAGGGCCAA
 CTCTTCCCGTGTGTGGTGGGACTCCTCTTTTCTGGGCGGCGTGGTCCATCTGGAAGCT
 GGTGAGGAAGTCGTCGTAAGAGTACCTGGAAACCGTCTGGTTCGCCCCCGCGATGG
 CACCAGGTCCTACTTCGGAGCTTTCATGGTA

LIGHT мышцы (мутант с отсутствием расщепления)

(SEQ ID NO: 79)

MESVVQPSVFVVDGQTDIPFRRLEQNHRRRRRCGTVQVSLALVLLLGAGLATQG

WFLRLHQR LGDIVAHL PDGGKGSWQDQRSHQANPAAHLTGANASLIGIGGP LLWETR
 LGLAFLRGLTYHDGALVTMEPGYYYVYSKVQLSGVGCPQGLANGLPITHGLYKRTSRY
 PKELELLVSR RSPCGRANSSRVWWDSSFLGGVVHLEAGEEVVVRVPGNRLVRPRDGTR
 SYFGAFMV

IL12 мыши (трансмембранная форма)

(SEQ ID NO: 80)

ATGTGCCCACAGAAACTCACAATTTCTTGGTTCGCAATCGTCCTGCTGGTGTG
 ACCCCTGATGGCAATGTGGGAGTTGGAAAAGGATGTATACGTCGTCGAGGTCGACT
 GGACACCTGACGCTCCGGGTGAAACTGTCAACCTCACTTGCGATACTCCTGAAGAG
 GACGACATCACGTGGACGAGCGACCAGCGACATGGAGTGATAGGGTCTGGCAAGAC
 GCTTACTATCACGGTTAAGGAATTTCTCGACGCAGGGCAGTACACATGTCACAAGG
 GCGGCGAGACTCTGAGCCACTCCCATTGCTGCTGCACAAGAAGGAGAATGGTATC
 TGGTCTACCGAAATCCTGAAGAATTTTAAGAACAAGACTTTTCTGAAATGCGAGGCC
 CCAAATTATTCCGGACGTTTCACTTGCAAGTTGGCTCGTTCAAAGAAATATGGACTTG
 AAATTTAACATTAAATCCAGCTCTTCATCTCCTGACAGCAGGGCCGTAACCTTGTGGA
 ATGGCTTCATTGTCAGCTGAGAAAGTTACGCTTGACCAAAGGGATTATGAGAAATA
 CAGCGTGAGTTGCCAGGAAGATGTGACATGTCCAACGGCAGAGGAAACGTTGCCAA
 TTGAGCTCGCTTTGGAAGCTCGTCAACAAAACAAGTATGAAAACCTATAGTACTAGCT
 TCTTCATACGGGACATCATCAAACCAGATCCACCTAAGAATTTGCAGATGAAGCCTC
 TGAAGAATTCACAAGTCGAGGTATCCTGGGAATACCCAGATTCATGGTCCACTCCTC
 ATAGTTACTTTAGCCTGAAATTCCTTTGTACGCATACAGCGGAAGAAGGAGAAAATG
 AAGGAGACGGAAGAAGGCTGCAATCAGAAAGGCGCTTTTCTTGTTGAAAAGACGAG
 CACTGAGGTTCAATGCAAAGGCGGGAATGTATGTGTTCAAGCCCAAGATAGGTATT
 ATAATAGCTCCTGCTCTAAGTGGGCTTGCGTACCATGCAGAGTTAGAAGTGGCTCAA
 CCTCAGGCTCCGGAAAACCTGGTTCCGGTGAAGGTTCCACAAAAGGGCGTGTGATT
 CCTGTGTCCGGCCCAGCTAGGTGTCTCTCCAGTCACGGAATCTCCTGAAAACCACG
 GATGACATGGTAAAGACAGCTAGGGAGAAACTCAAGCACTACTCCTGCACAGCTGA
 GGATATCGATCATGAGGACATCACCAGGGACCAGACATCCACTCTGAAAACCTTGCC
 TGCCTTTGGAACCTCCACAAGAACGAATCTTGTCTGGCAACGCGTGAAACGAGTTCTA
 CTACAAGAGGGTCCTGTCTTCCCCCTCAAAAGACAAGCCTTATGATGACCTTGTGTC
 TCGGTAGCATTTATGAGGACCTAAAGATGTATCAAACCGAGTTTCAGGCTATCAATG
 CAGCGCTCCAGAATCATAACCATCAGCAGATCATTCTTGACAAAGGAATGCTCGTG
 GCCATTGATGAACTAATGCAGAGCCTAAACCACAATGGCGAGACTCTTCGACAGAA
 ACCGCCTGTGGGCGAGGCCGATCCATATAGAGTCAAAATGAAACTGTGTATTCTCCT
 GCATGCATTTAGTACTCGTGTAGTGACTATTAACAGAGTGATGGGTACCTTTCCTC
 AGCTAATACTTGTCTCTTTGGCGCTGGGTTCGGCGCCGTCATAACGGTTGTTGTC
 ATCGTGGTAATAATCAAGTGCTTTTGCAAGCACAGGTCTTGTTTTCGCAGGAATGAA
 GCCTCTAGAGAAACAAATAATTCAGTACCTTTGGCCCCGAAGAAGCTCTTGCAGA
 GCAAACGGTGTTTCTC

IL12 мыши (трансмембранная форма)

(SEQ ID NO: 81)

MCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTP
EEDDITWTS DQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENG IW
STEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSWL VQRNMDLKFNKSSSSSPDSRAVTCGMASL
SAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIIP
DPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETE EGCNQK
GAFLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYNNSSCSKWACVPCRVRSGSTSGSGKPGSGEG
STKGRVIPVSGPARCLSQSRNLLKTDDMVKTAREKLKHYSCTAEDIDHEDITRDQTSTL
KTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLP PQKTSLMMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAIN
AALQNHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLRQKPPVGEADPYRVKMKLCILLH
AFSTRVVTINRVMGYLSSANTLVLF GAGFGAVITVVVIVVIIKCFCKHRSCFRRNEASRE
TNNSLTFGP EEALAEQTVFL

IL12 мыши (секретируемая форма)

(SEQ ID NO: 82)

ATGTGTCAGTCACGCTATCTTCTCTTCCTTGCTACTCTGGCCTTGCTCAATCAC
TTGTCCCTTGCTCGTGTGATTCCTGTGTCCGGCCCAGCTAGGTGTCTCTCCAGTCAC
GGAATCTCCTGAAAACACGGATGACATGGTAAAGACAGCTAGGGAGAAACTCAAG
CACTACTCCTGCACAGCTGAGGATATCGATCATGAGGACATCACCAGGGACCAGAC
ATCCACTCTGAAAACCTGCCTGCCTTTGGA ACTCCACAAGAACGAATCTTGTCTGGC
AACGCGTGAAACGAGTTCTACTACAAGAGGGTCCTGTCTTCCCCCTCAAAAGACAA
GCCTTATGATGACCTTGTGTCTCGGTAGCATTTATGAGGACCTAAAGATGTATCAAA
CCGAGTTTCAGGCTATCAATGCAGCGCTCCAGAATCATAACCATCAGCAGATCATTC
TTGACAAAGGAATGCTCGTGGCCATTGATGAACTAATGCAGAGCCTAAACCACAAT
GGCGAGACTCTTCGACAGAAACCGCCTGTGGGCGAGGCCGATCCATATAGAGTCAA
AATGAAACTGTGTATTCTCCTGCATGCATTTAGTACTCGTGTAGTGACTATTAACAG
AGTGATGGGTTACCTTTCCTCAGCTGGAAGCGGCGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAA
GCAGGCCGCGACGTGGAGGAGAACCCCGGCCCATGTGCCACAGAAACTCACAA
TTTCTTGGTTCGCAATCGTCCTGCTGGTGTCACCCCTGATGGCAATGTGGGAGTTGG
AAAAGGATGTATACGTCGTCGAGGTCGACTGGACACCTGACGCTCCGGGTGAAACT
GTCAACCTCACTTGCGATACTCCTGAAGAGGACGACATCACGTGGACGAGCGACCA
GCGACATGGAGTGATAGGGTCTGGCAAGACGCTTACTATCACGGTTAAGGAATTTCT
CGACGCAGGGCAGTACACATGTCACAAGGGCGGCGAGACTCTGAGCCACTCCCATT
TGCTGCTGCACAAGAAGGAGAATGGTATCTGGTCTACCGAAATCCTGAAGAATTTTA
AGAACAAGACTTTTCTGAAATGCGAGGCCCAAATTATTCCGGACGTTTCACTTGCA
GTTGGCTCGTTCAAAGAAATATGGA CTTGAAATTTAACATTAAATCCAGCTCTTCAT
CTCCTGACAGCAGGGCCGTA ACTTGTGGAATGGCTTCATTGTCAGCTGAGAAAGTTA
CGCTTGACCAAAGGGATTATGAGAAATACAGCGTGAGTTGCCAGGAAGATGTGACA
TGTC AACGGCAGAGGAAACGTTGCCAATTGAGCTCGCTTTGGAAGCTCGTCAACA
AAACAAGTATGAAA ACTATAGTACTAGCTTCTTCATACGGGACATCATCAAACCAG
ATCCACCTAAGAATTTGCAGATGAAGCCTCTGAAGAATTCACAAGTCGAGGTATCCT

GGGAATACCCAGATTCATGGTCCACTCCTCATAGTTACTTTAGCCTGAAATTCTTTGT
ACGCATACAGCGGAAGAAGGAGAAAAATGAAGGAGACGGAAGAAGGCTGCAATCAG
AAAGGCGCTTTTCTTGTGAAAAGACGAGCACTGAGGTTCAATGCAAAGGCGGGAA
TGTATGTGTTCAAGCCCAAGATAGGTATTATAATAGCTCCTGCTCTAAGTGGGCTTG
CGTACCATGCAGAGTTAGAAGT

IL12 мыши (секретируемая форма)

(SEQ ID NO: 83)

MCQSRYLFLATLALLNHLNHLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTTDDMVKTAREK
LKHYSCTAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSML
MTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLR
QKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSAGSGATNFSLLKQAGDVEE
NPGPMCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKD VYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTPE
EDDITWTSQDRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENGIWS
TEILKNFKNKTFKCEAPNYSGRFTCSWLVRNMDLKFNKSSSSSPDSRAVTCGMASLS
AEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIKPD
PPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQKG
AFLVEKTSTEVQCKGGNVCVQ AQDRYYNSSCSKWACVPCRVS

IFN альфа A2 мыши

(SEQ ID NO: 84)

ATGGCCAGGCTTTGCGCTTTTCTCGTCATGCTGATCGTCATGAGTTACTGGTC
CATTTGCAGCCTCGGATGTGATCTGCCCCACACCTACAACCTGCGCAACAAACGAGC
TCTCAAAGTGTTGGCCCAAATGAGGCGGTTGCCCTTCCTTTCCTGTCTCAAAGACAG
GCAAGATTTTGGATTTCCACTAGAGAAAGTAGACAATCAACAGATACAGAAAGCTC
AAGCTATCCCCGTGTTGAGGGACTTGACTCAACAGACGTTGAATCTATTTACTAGCA
AGGCCAGCTCTGCTGCTTGGAATGCCACCCTTCTTGACTCATTTTGCAATGACCTAC
ATCAACAACCTGAATGATCTCCAAACATGTTTGATGCAGCAGGTAGGTGTCCAAGAA
CCCCGCTTACTCAGGAAGACGCCCTTCTGGCTGTCCGCAAGTACTTTCACAGAATC
ACAGTGTACCTGCGCGAAAAGAAACACTCCCCCTGCGCTTGGGAAGTGGTCAGGGC
CGAGGTTTGGCGAGCCCTGAGTAGCTCCGTCAATCTCCTTCCTCGGTTGTCCGAGGA
GAAAGAG

IFN альфа A2 мыши

(SEQ ID NO: 85)

MARLCAFLVMLIVMSYWSICSLGCDLPHTYNLRNKRALKVLAQMRRLPFLSCLK
DRQDFGFPLEKVDNQQIQKAQAIPVLRDLTQQTLNLFTSKASSAAWNATLLDSFCNDLH
QQLNDLQTCLMQQVGVQEPLTQEDALLAVRKYFHRITVYLREKKHSPCAWEVVRAE
VWRALSSSVNLLPRLSEEKE

CD80 мыши

(SEQ ID NO: 86)

ATGGCTTGCAACTGTCAGCTCATGCAAGATACTCCCCTGCTTAAGTTTCCCTG
CCCTAGACTCATTCTCCTCTTCGTCCTTCTCATTCGCCTAAGCCAGGTGAGTTCCGAT

GTGGATGAACAACCTGAGTAAATCTGTCAAGGATAAAGTTCTGCTCCCATGCCGCTAC
 AATAGCCCCCATGAGGACGAGTCCGAAGATAGGATTTACTGGCAGAAACATGATAA
 GGTGGTGCTATCCGTCATTGCCGGTAAATTGAAGGTGTGGCCCGAATATAAGAATA
 GAACCCTGTATGACAACACAACCTTATAGCCTAATCATCCTCGGTCTCGTACTGAGCG
 ACCGAGGTACTTACTCATGCGTTGTGCAGAAGAAGGAGCGCGGAACATACGAAGTC
 AAGCACCTTGCATTGGTGAAATTGTCAATAAAAGCTGACTTTTCAACTCCTAATATT
 ACTGAATCAGGTAACCCTTCCGCAGACACTAAAAGAATTACATGCTTCGCCTCTGGC
 GGGTTTCCCAAACCACGGTTCTCTTGGCTAGAGAATGGGAGAGAACTTCCAGGTATC
 AATACAACCATCTCTCAAGACCCAGAATCAGAACTGTACACCATCTCCAGCCAACTC
 GATTTCAATACCACAAGAAATCATACAATAAAATGTCTGATAAAGTACGGAGATGC
 ACATGTCTCTGAAGATTTACATGGGAGAAACCACCAGAGGACCCGCCAGACAGCA
 AGAATACACTTGTCTCTTTGGCGCTGGGTTCGGCGCCGTCATAACGGTTGTTGTCA
 TCGTGGTAATAATCAAGTGCTTTTGCAAGCACAGGTCTTGTTTTTCGCAGGAATGAAG
 CCTCTAGAGAAACAAATAATTCACTGACCTTTGGCCCCGAAGAAGCTCTTGCAGAGC
 AAACGGTGTTTCTC

CD80 мыши

(SEQ ID NO: 87)

MACNCQLMQDTPLLKFPCPRLILLFVLLIRLSQVSSDVDEQLSKSVKDKVLLPCR
 YNSPHEDESEDRIYWQKHDKVVLVSVIAGKLKVWPEYKNRTLYDNTTYSLIILGLVLSDR
 GTYSCVVQKKERGTYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFPKP
 RFSWLENGRELPGINTTISQDPESELYTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDHVSSEDFTWE
 KPPEDPPDSKNTLVLFAGFGAVITVVVIVVIKCFCKHRSCFRR NEASRETNNS
 LTFGP EEALAEQTVFL

CD40-L мыши

(SEQ ID NO: 88)

ATGATCGAAACTTATTCCCAACCCTCACCGCGCTCAGTAGCAACTGGCCTACC
 AGCCAGCATGAAGATATTCATGTACCTCTTGACTGTATTCTTGATCACGCAAATGAT
 TGGTAGTGTTTTGTTTCGCCGTTTATCTCCACAGGCGCCTGGATAAAGTTGAAGAAGA
 GGTTAATCTCCATGAAGACTTCGTGTTCATTAAGAAACTCAAAAGATGTAACAAAG
 GTGAGGGATCTCTGTCTCTTCTGAACTGTGAGGAGATGCGACGGCAATTCGAGGACC
 TCGTAAAAGACATAACTCTCAACAAAGAAGAGAAGAAAGAAAACCTTTTCGAGATG
 CAACGGGGCGACGAGGACCCTCAAATTGCCGCACATGTCGTTTCTGAAGCGAATTC
 CAATGCCGCGTCCGTGCTCCAGTGGGCGAAGAAGGGATACTACACGATGAAGAGCA
 ACCTTGTGATGCTTGAAAATGGCAAGCAGCTCACAGTTAAACGCGAGGGACTCTAC
 TATGTATACACCCAAGTGACCTTTTGTTCACACCGGGAGCCAAGTAGCCAACGCCCCG
 TTCATCGTTGGGCTGTGGCTCAAGCCTTCTTCAGGGAGTGAACGAATCCTTCTCAAG
 GCAGCCAACACGCATTCCAGCAGCCAACCTGTGTGAGCAACAATCCGTGCATCTTGG
 CGGGGTCTTTGAGCTGCAAGCGGGCGCCTCTGTGTTTCGTGAATGTTACCGAAGCCAG
 CCAGGTTATCCACCGCGTGGGTTTCAGTAGTTTTTGGCCTGCTCAAGCTG

CD40-L мыши

(SEQ ID NO: 89)

MIETYSQSPRSVATGLPASMKIFMYLLTVFLITQMIGSVLFAVYLHRRLDKVEEE
VNLHEDFVFIKKLKRCNKGEGLSLLNCEEMRRQFEDLVKDITLNKEEKKENSFEMQRG
DEDPQIAAHVVSEANSNAASVLQWAKKGYTMTKSNLVMLENGKQLTVKREGLYYVY
TQVTFCNREPSSQRPFIVGLWLKPSSGSERILLKAANTHSSSQLCEQQSVHLGGVFELQ
AGASVFNVTASQVIHRVGFSSFGLLKL

IL21 мышцы

(SEQ ID NO: 90)

ATGGAGCGTACTCTGGTCTGCCTTGTTGTGATATTCTTGGGGACAGTTGCACA
CAAATCATCACCCCAAGGACCGGATAGACTCCTCATAACGCTGCGCCATCTGATTGA
CATTGTGCGAGCAGTTGAAGATTTATGAGAACGACCTGGACCCTGAACTATTGAGCGC
GCCTCAAGACGTCAAAGGGCATTGCGAGCATGCTGCATTTGCATGTTTTAGAAAGC
TAAGCTCAAACCAAGTAATCCCGGTAACAATAAAACATTCATCATCGACCTGGTGG
CCCAACTAAGACGCCGGTTGCCGGCGCGCCGGGGTGGTAAGAAACAGAAACATATT
GCTAAATGCCCTCTTGCCTCTTACGAGAAAAGGACACCTAAGGAATTCCTCGAA
CGATTGAAATGGTTGTTGCAGAAGATGATCCATCAACATCTGAGC

IL21 мышцы

(SEQ ID NO: 91)

MERTLVCLVVIFLGTVAHKSSPQGPDRLLIRLRHLIDIVEQLKIYENDLDPILLSAP
QDVKGHCENAAAFACFQKAKLKPSNPGNNKTFIIDLVAQLRRRLPARRGGKKQK
HIAKCPSCDSYEKTRTPKEFLERLKWLLQKM IHQHLS

CCL21 мышцы

(SEQ ID NO: 92)

ATGGCACAAATGATGACACTGTCCCTACTTAGTCTAGTTCTAGCTTTGTGTAT
TCCCTGGACTCAAGGCAGTGACGGAGGAGGACAAGACTGCTGCCTCAAATATTCTC
AAAAGAAAATCCCTTATTCTATAGTCCGAGGTTACCGTAAGCAAGAACCGAGTCTA
GGTTGTCCTATCCCCGCAATCCTCTTTCTACCACGGAAACATAGCAAACCAGAATTG
TGCGCCAACCCAGAAGAGGGTTGGGTCCAAAATTTGATGAGGCGCCTTGACCAACC
ACCGGCCCGGGTAAACAATCACCGGGGTGTCGGAAGAATAGGGGTACATCCAAAT
CCGGGAAGAAAGGGAAGGGGAGTAAGGGCTGTAAGAGAACGGAACAAACTCAACC
TAGCAGAGGT

CCL21 мышцы

(SEQ ID NO: 93)

MAQMMTSLLSLVLALCIPWTQGSDDGGGQDCCLKYSQKKIPYSIVRGYRKQEPS
LGCPIAILFLPRKHSKPELCANPEEGWVQNLMRRLDQPPAPGKQSPGCRKNRGTSKSG
KKGKGSKGCKRTEQTQPSRG

scFv к CD3 мышцы-трансмембранный

(SEQ ID NO: 94)

ATGGAAACCGACACATTGCTCCTCTGGGTCTCCTTCTATGGGTCCCCGGTTC
CACCGGAGATATCCAAATGACACAATCACCCAGCAGCCTGCCTGCCTCTCTGGGCG

ACCGCGTTACCATCAATTGTCAAGCTTCCCAAGATATAAGTAATTATCTCAACTGGT
 ACCAGCAAAAGCCCGGTAAAGCGCCTAAATTGCTGATTTATTATACTAATAAACTCG
 CAGATGGAGTTCCTAGTAGATTTTCTGGTTCAGGGAGTGGACGGGACTCCAGTTTTTA
 CCATATCAAGTCTGGAATCCGAGGATATCGGCAGCTACTATTGCCAGCAATATTATA
 ATTACCCTTGGACTTTTGGACCCGGGACTAAACTTGAGATCAAAAGAGGCGGAGGA
 GGCAGTGGTGGTGGTGGATCAGGCGGCGGTGGTAGTGAGGTACAACCTCGTGGAATC
 AGGCGGCGGACTGGTCCAACCCGGCAAGAGCCTTAAACTCTCTTGTGAGGCCAGTG
 GATTTACATTCAGCGGTTATGGAATGCACTGGGTGAGACAAGCTCCCGGCAGGGGC
 CTAGAATCAGTGGCGTACATCACCAGCTCATCAATAAACATTAAATACGCTGATGCA
 GTCAAGGGCCGGTTTACTGTATCCCGCGACAACGCTAAGAATCTTCTCTTTCTGCAA
 ATGAACATACTTAAGAGCGAGGATACTGCCATGTATTATTGTGCCCCTTCGATTGG
 GATAAGAATTATTGGGGACAAGGCACCATGGTTACCGTTAGTAGTCCAAACATCAC
 ATCAAATAATAGCAACCCCGTGGAAGGGGACGACTCTGTTTCACTCACCTGTGATTC
 CTATACCGATCCTGATAATATCAACTATCTATGGTCTCGTAACGGTGAAAGTCTCAG
 CGAAGGCGACCGGTTGAAACTCTCCGAAGGTAACAGAACCCTTACGCTTCTGAACG
 TCACCCGGAACGATACCGGGCCCTATGTTTGCGAAACTAGGAACCCTGTTAGCGTGA
 ATCGTAGCGACCCTTTCTCCCTAAATAATACTCTAGTGCTATTCGGAGCGGGATTCTG
 GTGCCGTCATCACAGTAGTCGTTATTGTAGTCATTATTAAATGCTTTTGTAAACATAG
 GTCTTGCTTCAGAAGAAATGAGGCCAGCCGTGAAACTAATAATTCCCTGACCTTTGG
 GCCCGAAGAAGCTTTGGCTGAACAGACTGTGTTTCTC

scFv к CD3 мышцы-трансмембранный

(SEQ ID NO: 95)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLPASLGDRVITINCQASQDISNYLN
 WYQQKPGKAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSGRDSSTFTISSLESEDIGSYQCQYYNY
 PWTFGPGTKLEIKRGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFS
 GYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRFTVSRDNAKNLLFLQMNILKSE
 DTAMYYCARFDWDKNYWGQGTMTVTVSSPNITSNNSNPVEGDDSVSLTCDSTDPDNI
 NYLWSRNGESLSEGDRLKLSEGNRTLTLNVTRNDTGPYVCETRPVSVNRSDPFSLNN
 TLVLFAGAGFGAVITVVVIVVIKCFCKHRSCFRRNEASRETNNSLTFGPPEALAEQTVFL

TSLP мышцы

(SEQ ID NO: 96)

ATGGTTCTTCTCAGGAGCCTCTTCATCCTGCAAGTACTAGTACGGATGGGGCT
 AACTTACAACCTTTTCTAACTGCAACTTCACGTCAATTACGAAAATATATTGTAACAT
 AATTTTTTCATGACCTGACTGGAGATTTGAAAGGGGCTAAGTTCGAGCAAATCGAGG
 ACTGTGAGAGCAAGCCAGCTTGTCTCCTGAAAATCGAGTACTATACTCTCAATCCTA
 TCCCTGGCTGCCCTTCACTCCCCGACAAAACATTTGCCCGGAGAACAAAGAGAAGCCC
 TCAATGACCACTGCCCAGGCTACCCTGAAACTGAGAGAAATGACGGTACTCAGGAA
 ATGGCACAAGAAGTCCAAAACATCTGCCTGAATCAAACCTCACAAATTCTAAGATT
 GTGGTATTCCTTCATGCAATCTCCAGAA

TSLP мышцы

(SEQ ID NO: 97)

MVLLRSLFILQVLVRMGLTYNFSNCNFTSITKIYCNIFHDLTGDLKGAKFEQIED
CESKPACLLKIEYYTLNPIPGCPSLPDKTFARRTREALNDHCPGYETERNDGTQEMAQE
VQNICLNQTSQILRLWYSFMQSPE

GM-CSF мышь

(SEQ ID NO: 98)

ATGTGGCTGCAGAATTTACTTTTCCTGGGCATTGTGGTCTACAGCCTCTCAGC
ACCCACCCGCTCACCCATCACTGTCACCCGGCCTTGGAAGCATGTAGAGGCCATCAA
AGAAGCCCTGAACCTCCTGGATGACATGCCTGTCACGTTGAATGAAGAGGTAGAAG
TCGTCTCTAACGAGTTCTCCTTCAAGAAGCTAACATGTGTGCAGACCCGCCTGAAGA
TATTCGAGCAGGGTCTACGGGGCAATTTACCAAACCTCAAGGGCGCCTTGAAACATG
ACAGCCAGCTACTACCAGACATACTGCCCCCAACTCCGGAAACGGACTGTGAAAC
ACAAGTTACCACCTATGCGGATTTATAGACAGCCTTAAAACCTTTCTGACTGATAT
CCCCTTTGAATGCAAAAAACCAGGCCAAAAA

GM-CSF мышь

(SEQ ID NO: 99)

MWLQNLLFLGIVVYSLAPTRSPITVTRPWKHVEAIKEALNLLDDMPVTLNEEVE
VVSNEFSFKLTCVQTRLKIFEQGLRGNFTKLKGALNMTASYQTYCPPTPETDCETQV
TTYADFIDSLKTFLTDIPFECKKPGQK

IFN гамма мышь

(SEQ ID NO: 100)

ATGAACGCTACACACTGCATCTTGGCTTTGCAGCTCTTCCTCATGGCTGTTTC
TGGCTGTTACTGCCACGGCACAGTCATTGAAAGCCTAGAAAGTCTGAATAACTATTT
TAACTCAAGTGGCATAGATGTGGAAGAAAAGAGTCTCTTCTTGGATATCTGGAGGA
ACTGGCAAAAGGATGGTGACATGAAAATCCTGCAGAGCCAGATTATCTCTTTCTACC
TCAGACTCTTTGAAGTCTTGAAAGACAATCAGGCCATCAGCAACAACATAAGCGTC
ATTGAATCACACCTGATTACTACCTTCTTCAGCAACAGCAAGGCGAAAAAGGATGC
ATTCATGAGTATTGCCAAGTTTGAGGTCAACAACCCACAGGTCCAGCGCCAAGCATT
CAATGAGCTCATCCGAGTGGTCCACCAGCTGTTGCCGGAATCCAGCCTCAGGAAGC
GGAAAAGGAGTCGCTGC

IFN гамма мышь

(SEQ ID NO: 101)

MNATHCILALQLFLMAVSGCYCHGTVIESLESNNYFNSSGIDVEEKSLFLDIWR
NWQKDGDMMKILQSQIISFYLRLEVLKDNQAISNNISVIESHLITTFNSKAKKDAFMSI
AKFEVNNPQVQRQAFNELIRVVHQLLPESSLRKRKRSRC

IL7 мышь

(SEQ ID NO: 102)

ATGTTCCATGTTTCTTTTAGATATATCTTTGGAATTCCTCCACTGATCCTTGTT
CTGCTGCCTGTCACATCATCTGAGTGCCACATTAAAGACAAAGAAGGTAAAGCATA
TGAGAGTGTAAGTATGATGATCAGCATCGATGAATTGGACAAAATGACAGGAACTGATA

GTAATTGCCCGAATAATGAACCAAACCTTTTTTAGAAAACATGTATGTGATGATACAA
 AGGAAGCTGCTTTTCTAAATCGTGCTGCTCGCAAGTTGAAGCAATTTCTTAAAATGA
 ATATCAGTGAAGAATTCAATGTCCACTTACTAACAGTATCACAAGGCACACAAACA
 CTGGTGAAGTGCACAAGTAAGGAAGAAAAAAACGTAAAGGAACAGAAAAAGAATG
 ATGCATGTTTCTAAAGAGACTACTGAGAGAAATAAAAACTTGTGGAATAAAATTT
 TGAAGGGCAGTATA

IL7 мышцы

(SEQ ID NO: 103)

MFHVSFRYIFGIPPLILVLLPVTSSSECHIKDKEGKAYESVLMISIDELDKMTGTDSN
 CPNNEPNFFRKHVCDTKEAAFLNRAARKLKQFLKMNISEEFNVHLLTVSQGTQTLVN
 CTSKEEKNVKEQKNDACFLKRLLEIKTCWNKILKGS

ICOS-L мышцы

(SEQ ID NO: 104)

ATGCAGCTAAAGTGTCCCTGTTTTGTGTCCTTGGGAACCAGGCAGCCTGTTTG
 GAAGAAGCTCCATGTTTCTAGCGGGTCTTTTCTGGTCTTGGTCTGTTCTTGCTGCTG
 TTGAGCAGCCTCTGTGCTGCCTCTGCAGAGACTGAAGTCGGTGCAATGGTGGGCAGC
 AATGTGGTGCTCAGCTGCATTGACCCCCACAGACGCCATTTCAACTTGAGTGGTCTG
 TATGTCTATTGGCAAATCGAAAACCCAGAAGTTTCGGTGACTTACTACCTGCCTTAC
 AAGTCTCCAGGGATCAATGTGGACAGTTCCTACAAGAACAGGGGCCATCTGTCCCT
 GGACTCCATGAAGCAGGGTAACTTCTCTCTGTACCTGAAGAATGTCACCCCTCAGGA
 TACCCAGGAGTTCACATGCCGGGTATTTATGAATACAGCCACAGAGTTAGTCAAGAT
 CTTGGAAGAGGTGGTCAGGCTGCGTGTGGCAGCAAACCTTCAGTACACCTGTCATCA
 GCACCTCTGATAGCTCCAACCCGGGCCAGGAACGTACCTACACCTGCATGTCCAAG
 AATGGCTACCCAGAGCCCAACCTGTATTGGATCAACACAACGGACAATAGCCTAAT
 AGACACGGCTCTGCAGAATAACACTGTCTACTTGAACAAGTTGGGCCTGTATGATGT
 AATCAGCACATTAAGGCTCCCTTGGACATCTCGTGGGGATGTTCTGTGCTGCGTAGA
 GAATGTGGCTCTCCACCAGAACATCACTAGCATTAGCCAGGCAGAAAGTTTCACTG
 GAAATAACACAAAGAACCCACAGGAAACCCACAATAATGAGTTAAAAGTCCTTGTC
 CCCGTCCTTGCTGTACTGGCGGCAGCGGCATTTCGTTTCCTTCATCATATACAGACGC
 ACGCGTCCCCACCGAAGCTATACAGGACCCAAGACTGTACAGCTTGAAGTTACAGA
 CCACGCC

ICOS-L мышцы

(SEQ ID NO: 105)

MQLKPCFVSLGTRQPVWKKLHVSSGFFSGLGLFLLLLSSLCAASAETEVGAMV
 GSNVVLSCIDPHRRHFNLGLYVYWQIENPEVSVTYLPHYKSPGINVDSSYKNRGHLSL
 DSMKQGNFSLYLKNVTPQDTQEFTCRVFMNTATELVKILEEVVRLRVAANFSTPVISTS
 DSSNPGQERTYTCMSKNGYPEPNLYWINTTDSLIDTALQNNTVYLNKLGLYDVISTLR
 LPWTSRGDVLCCVENVALHQNITSISQAESFTGNNTKNPQETHNNELKVLVPVLAVLAA
 AAFVSFIYRRTTRPHRSYTGPKTVQLELTD HA

CD47 мышцы

(SEQ ID NO: 106)

ATGTGGCCCTTGGCGGGCGGCGCTGTTGCTGGGCTCCTGCTGCTGCGGTTTCAGC
TCAACTACTGTTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCACTTCATGCAATGAAACTGT
GGTCATCCCTTGCATCGTCCGTAATGTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTTGT
GAAGTGGAAGTTGAACAAATCGTATATTTTCATCTATGATGGAAATAAAAAATAGCA
CTACTACAGATCAAAACTTTACCAGTGCAAAAATCTCAGTCTCAGACTTAATCAATG
GCATTGCCTCTTTGAAAATGGATAAGCGCGATGCCATGGTGGGAAACTACACTTGCG
AAGTGACAGAGTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTATAGAGCTGAAAAACCGCAC
GGTTTCGTGGTTTTCTCCAAATGAAAAGATCCTCATTGTTATTTTCCCAATTTTGGCT
ATACTCCTGTTCTGGGGAAAGTTTGGTATTTTAACACTCAAATATAAATCCAGCCAT
ACGAATAAGAGAATCATTCTGCTGCTCGTTGCCGGGCTGGTGCTCACAGTCATCGTG
GTTGTTGGAGCCATCCTTCTCATCCCAGGAGAAAAGCCCGTGAAGAATGCTTCTGGA
CTTGGCCTCATTGTAATCTCTACGGGGATATTAATACTACTTCAGTACAATGTGTTTA
TGACAGCTTTTGGAATGACCTCTTTCACCATTTGCCATATTGATCACTCAAGTGCTGG
GCTACGTCCTTGCTTTGGTCGGGCTGTGTCTCTGCATCATGGCATGTGAGCCAGTGC
ACGGCCCCCTTTTGATTTACAGGTTTGGGGATCATAGCTCTAGCAGAACTACTTGGAT
TAGTTTATATGAAGTTTGTGCTTCCAACCAGAGGACTATCCAACCTCCTAGGAATA
GG

CD47 мыши

(SEQ ID NO: 107)

MWPLAAALLLGSCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPCIVRNVEAQSTEEMF
VKWKLNKSIFYIDGNKNSTTTDQNFSAKISVSDLINGIASLKMDKRDAMVGNYTCEV
TELSREGKTVIELKNRTVSWFSPNEKILIVIFPILAILLFWGKFGILTLYKSSHTNKRILL
VAGLVLTIVVVGAILLIPGEKPVKNASGLGLIVISTGILILLQYNVFMTAFGMTSFTIAILI
TQVLGYVLALVGLCLCIMACEPVHGPLLISGLGIIALAELLGLVYMKFVASNQRTIQPPR
NR

Альфа-саркогликан мыши:

(SEQ ID NO: 108)

ATGGCAGCAGCAGTAACTTGGATACCTCTCCTGGCAGGTCTCCTGGCAGGAC
TGAGGGACACCAAGGCCAGCAGACAACCTTTACACCTACTTGTGGGTCGTGTGTTTG
TGCATCCTTTGGAACATGCCACCTTCCTGCGCCTTCCAGAACACGTTGCGGTGCCAC
CCACTGTCCGACTCACCTACCACGCTCACCTCCAGGGACATCCAGACCTGCCCAGGT
GGCTGCACTACACACAGCGCAGTCCCTATAACCCTGGCTTCCTCTACGGCTCCCCCA
CTCCAGAAGATCGTGGGTACCAAGTCATCGAGGTACAGCCTACAATCGAGACAGT
TTTGACACCACTAGACAGAGGCTGCTGCTGCTGATTGGGGACCCCGAAGGTCCCCG
GTTGCCATACCAAGCTGAGTTCCTGGTGCGCAGCCATGATGTGGAGGAGGTGCTGCC
CACCACACCTGCCAACCGCTTCCTCACCGCCTTGGGGGGACTGTGGGAGCCAGGAG
AGCTTCAGCTGCTCAACATCACTTCCGCCTTGGACCGGGGAGGCCGAGTCCCTCTTC
CTATTGAGGGACGGAAGGAAGGGGTATACATTAAGGTAGGCTCTGCCACACCCTTC
TCCACCTGCCTGAAGATGGTGGCGTCGCCCCGACAGCTATGCCCCGTTGTGCCAGGGA

CAGCCTCCACTACTGTCCTGCTACGACACTTTGGCACCCCACTTCCGCGTTGACTGGT
 GCAATGTGTCTCTGGTAGACAAGTCAGTACCCGAGCCCCTGGATGAGGTACCTACTC
 CAGGCGATGGGATCTTGGAGCACGACCCGTTCTTCTGCCCACCCACTGAAGCCACAG
 ACCGAGACTTCCTGACAGATGCCTTGGTGACCCTCTTGGTGCCTTTGTTGGTGGCTCT
 GCTGCTTACTCTGTTGCTGGCTTACATCATGTGCTTTCGGCGTGAAGGACGGCTGAA
 GAGAGACATGGCCACCTCTGACATCCAGATGTTTCACCACTGTTCCATCCATGGGAA
 TACAGAAGAGCTTCGGCAGATGGCAGCCAGCCGAGAGGTGCCCCGGCCTCTTTCCA
 CCTTGCCCATGTTTAATGTTTCGTACAGGAGAGCGGTTACCTCCCCGAGTAGACAGCG
 CACAGATGCCTCTTATCCTGGACCAGCAC

Альфа-саркогликан мыши:

(SEQ ID NO: 109)

MAAAVTWIPLLAGLLAGLRDTKAQQTTLHLLVGRVVFVHPLEHATFLRLPEHVA
 VPPTVRLTYHAHLQGHDPDLPRWLHYTQRSPYNPGFLYGSPTPEDRGYQVIEVTAYNRDS
 FDTTRQRLLLLIGDPEGPRLPYQAEFLVRSHDVEEVLPPTPANRFLTALGGLWEPGELQL
 LNITSALDRGGRVPLPIEGRKEGVYIKVGSATPFSTCLKMVASPDYARCAQGQPPLSC
 YDTLAPHFRVDWCNVSLVDKSVPEPLDEVPTPGDGILEHDPFFCPPTTEATDRDFLTDALV
 TLLVPLLVALLLTLLLAYIMCFRREGRLKRDMATSDIQMFHHCSIHGNTTEELRQMAASR
 EVPRPLSTLPMFNVRTGERLPPRVDSAQM PLILDQH

FGF10 мыши

(SEQ ID NO: 110)

ATGTGGAAATGGATACTGACACATTGTGCCTCAGCCTTTCCCCACCTGCCGGG
 CTGCTGTTGCTGCTTCTTGTGCTCTTTTGGTGTCTTCGTTCCCTGTCACCTGCCAAG
 CTCTTGGTCAGGACATGGTGTACAGGAGGCCACCAACTGCTCTTCTTCCTCCTCGT
 CCTTCTCCTCTCCTTCCAGTGCGGGAAGGCATGTGCGGAGCTACAATCACCTCCAAG
 GAGATGTCCGCTGGAGAAGGCTGTTCTCCTTCACCAAGTACTTTCTCACGATTGAGA
 AGAACGGCAAGGTCAGCGGGACCAAGAATGAAGACTGTCCGTACAGTGTCTTGGAG
 ATAACATCAGTGGAAATCGGAGTTGTTGCCGTCAAAGCCATCAACAGCAACTATTA
 CTTAGCCATGAACAAGAAGGGGAACTCTATGGCTCAAAAGAGTTTAACAACGACT
 GTAAGCTGAAAGAGAGAATAGAGGAAAATGGATACAACACCTATGCATCTTTTAAC
 TGGCAGCACAATGGCAGGCAAATGTATGTGGCATTGAATGGAAAAGGAGCTCCCAG
 GAGAGGACAAAAACAAGAAGGAAAAACACCTCTGCTCACTTCCTCCCCATGACGA
 TCCAAACA

FGF10 мыши

(SEQ ID NO: 111)

MWKWILTHCASAFPHLPGCCCCFLLLFLVSSFPVTCQALGQDMVSQEATNCSSS
 SSSFSSPSSAGRHVRSYNHLQGDVRWRRLFSFTKYFLTIEKNGKVSGTKNEDCPYSVLEI
 TSVEIGVVAVKAINSYYLAMNKKGKLYGSKEFNNDCKLKERIEENGYNTYASFNWQH
 NGRQMYVALNGKGAPRRGQKTRRKNTSAHFLPMTIQT

Агрин мыши

(SEQ ID NO: 112)

ATGCCTCCTCTGCCACTGGAACACAGACCCAGGCAGCAGCCTGGTGCCTCCG
 TGCTGGTTCGGTACTTCATGATCCCCTGCAACATCTGCTTGATCCTCTTGGCTACTTC
 TACGTTGGGCTTTGCGGTGCTGCTTTTCCTCAGCAACTACAAACCTGGGATCCACTTC
 ACAGCAGCGCCTTCTATGCCTCCTGATGTGTGCAGGGGAATGTTATGTGGCTTTGGT
 GCTGTGTGTGAACCTAGTGTTGAGGATCCAGGCCGGGCCTCCTGTGTGTGCAAGAAG
 AATGTCTGCCCTGCTATGGTAGCTCCTGTGTGTGGCTCAGATGCTTCCACCTATAGC
 AACGAGTGTGAGCTACAGCGTGCACAGTGCAACCAGCAACGGCGCATCCGCCTACT
 CCGCCAAGGGCCATGTGGGTCCCGGGACCCCTGTGCCAATGTGACCTGCAGTTTCGG
 TAGTACCTGTGTACCTTCAGCCGATGGACAGACCGCCTCGTGTCTGTGTCCTACAAC
 CTGCTTTGGGGCCCCTGATGGCACAGTGTGTGGCAGTGATGGTGTGACTACCCTAG
 TGAGTGCCAGCTGCTCCGTCATGCCTGTGCCAACCAGGAGCACATCTTTAAGAAGTT
 CGATGGTCCTTGTGACCCCTGCCAGGGCAGCATGTCAGACCTGAATCATATTTGCCG
 GGTGAACCCACGTACACGGCACCCAGAAATGCTTCTGCGGCCTGAGAACTGCCCCG
 CCCAACACACACCTATCTGTGGAGATGATGGGGTCACCTATGAAAACGACTGTGTC
 ATGAGCCGTATAGGTGCAGCCCGTGGCCTGCTTCTCCAGAAAGTGCGCTCTGGTCAA
 TGCCAGACTCGAGACCAGTGCCCGGAGACCTGCCAGTTTAACTCTGTATGCCTGTCC
 CGCCGCGGCCGTCCCCACTGTTCTGCGATCGCGTCACCTGTGATGGGGCTTACAGG
 CCAGTGTGTGCCCAGGATGGGCACACGTATGACAATGACTGTTGGCGCCAACAGGC
 CGAGTGTGACAACAGCAGACCATTCCCCCAAGCACCAGGGCCCCGTGTGACCAGA
 CCCCATCCCCGTGCCGTGGAGCGCAGTGTGCATTTGGGGCAACATGCACAGTGAAG
 AATGGGAAAGCTGTGTGCGAGTGCCAGCGGGTGTGCTCGGGCGGCTACGATCCTGT
 GTGCGGCAGTGATGGTGTCACTTACGGCAGTGTGTGCGAGCTGGAATCCATGGCCTG
 TACCCTTGGGCGGGAAATCCGAGTGGCCCGCAGAGGACCGTGTGACCGATGTGGGC
 AGTGCCGGTTTGGATCCTTGTGCGAGGTGGAGACTGGACGCTGTGTGTGCCCCCTCTG
 AGTGTGTGGAGTCAGCCCAGCCCGTATGTGGCTCTGACGGACACACATATGCTAGTG
 AATGTGAGCTGCATGTCCACGCCTGTACACACCAGATCAGCCTATACGTGGCCTCAG
 CCGGACACTGCCAGACCTGTGGAGAAACAGTTTGTACCTTTGGGGCTGTGTGCTCAG
 CTGGACAGTGTGTATGTCCCCGTTGTGAGCACCCCCACCTGGCCCTGTGTGCGGCA
 GTGATGGCGTCACCTACCTCAGTGCCTGTGAGCTCCGAGAGGCTGCCTGTCAGCAGC
 AGGTACAAATTGAGGAGGCCCGTGCAGGGCCGTGTGAGCCGGCTGAGTGTGGCTCA
 GGGGGCTCTGGGTCTGGGGAAGACAATGCGTGTGAGCAGGAGCTGTGTGCGCAGCA
 TGGTGGTGTCTGGGATGAGGACTCAGAAGACGGGCCGTGTGTCTGTGACTTTAGTTG
 CCAGAGTGTCTTAAAAGCCCAGTGTGTGGCTCAGATGGAGTCACCTATAGCACGG
 AGTGCCATCTGAAGAAGGCCAGATGTGAAGCGCGGCAAGAGCTGTACGTCGCTGCT
 CAGGGAGCCTGCCGGGGCCCTACCTTGGCTCCACTGCTACCTATGGCCTCCCCACAC
 TGTGCCCAAACCCCCTATGGCTGCTGCCAGGACAATGTCACTGCTGCCCAGGGTGTG
 GGCTTGGCTGGCTGTCCCAGCACCTGCCATTGCAACCCACACGGCTCCTATAGCGGC
 ACTTGTGACCCAGTCACAGGGCAGTGCTCCTGCCGACCAGGTGTAGGAGGCCTCAG
 GTGTGATCGCTGTGAGCCTGGCTTCTGGAACCTCCGTGGCATTGTACCCGATGGACA
 TAGTGGTTGCACTCCCTGCAGCTGTGACCCTCGGGGTGCTGTAAGAGATGACTGTGA

GCAGATGACTGGATTGTGTTCCCTGTAGACCTGGTGTGGCTGGTCCCAAGTGTGGGCA
GTGTCCAGATGGTCAAGCCCTGGGCCATCTTGGCTGTGAAGCAGATCCCACAACACC
AGTGACTTGTGTGGAAATGCACTGTGAGTTTGGCGCCTCCTGCGTAGAGGAGGCTGG
TTTTGCCCAAGTGTGTCTGCCCAACTCTCACATGTCCAGAGGCTAACTCTACCAAGGT
CTGTGGATCAGATGGTGTACATACGGCAATGAATGCCAGCTGAAGACCATTGCCT
GCCGCCAGCGTCTGGACATCTCCATTCAGAGTCTTGGTCCATGCCGGGAGAGTGTTG
CTCCTGGGGTTTCCCCTACATCTGCATCTATGACCACCCCAAGGCATATCCTGAGCA
GGAACTGGCGTCTCCCCACAGCAGCCTTCCTCTGTCTCCCAGCACTACTGCCCATG
ATTGGCCCAACCCATTACCCACATCACCTCAGACCGTAGTCGGCACCCCAAGGAGCA
CTGCAGCCACACCCTCTGATGTGGCCAGTCTTGCTACAGCGATCTTCAGGGAATCTG
GCAGCACCAACGGCAGTGGCGATGAGGAGCTCAGTGGCGATGAGGAGGCCAGTGG
GGGCGGGTCTGGGGGACTTGAGCCCCCGGTGGGCAGCGTTGTGGTGACCCACGGGC
CACCCATCGAGAGGGCTTCCTGTTACAACCTCACCTTTGGGCTGCTGCTCAGATGGCA
AGACACCCTCACTGGACTCAGAAGGCTCCAACCTGTCCAGCTACCAAGGCATTCCAG
GGCGTGCTGGAGCTTGAGGGGGTTCGAGGGACAGGAACCTGTTCTACACACCAGAGAT
GGCTGACCCCAAGTCAGAGTTGTTTGGGGAGACTGCAAGGAGCATTGAGAGCACGC
TGGACGACCTGTTCCGGAATTCGGATGTTAAGAAGGACTTCTGGAGCATCCGCCTAC
GGGAACTGGGGCCTGGCAAATTAGTCCGTGCCATTGTGGATGTTCACTTTGACCCCA
CCACAGCCTTCAGGCACCAGATGTGGGTCAGGCCTTGCTCCAACAGATCCAGGTAT
CCAGGCCGTGGGCCCTGGCAGTGAGGAGGCCTCTGCGGGAGCATGTGCGATTCTTG
GACTTTGACTGGTTTCCCACTTTTTTTTACGGGAGCTGCAACAGGAACACAGCTGCT
GTGGCCACAGCCAGAGCCACCACTGTGAGCCGACTGTCTGCCTCTTCTGTCACCCCA
CGAGTCTACCCCAAGTTACACCAGCCGGCCTGTTGGCAGAACTACGGCACCGCTAACC
ACTCGCCGGCCACCAACCACTACCGCCAGTATTGACCGACCTCGGACTCCAGGCCCCG
CAACGGCCCCCAAAGTCCTGTGATTCCCAGCCTTGCCCTCCACGGAGGTACCTGCCAG
GACCTGGATTCTGGCAAGGGTTTCAGCTGCAGCTGTACTGCAGGCAGGGCTGGCACT
GTCTGTGAGAAAGTGCAGCTCCCCTCTGTGCCAGCTTTTAAGGGCCACTCCTTCTTG
GCCTTCCCCACCCTCCGAGCCTACCACACGCTGCGTCTGGCACTAGAATTCCGGGGCG
CTGGAGACAGAGGGACTGCTGCTCTACAATGGCAATGCACGTGGCAAAGATTTCT
GGCTCTGGCTCTGTTGGATGGTCATGTACAGTTCAGGTTTCGACACGGGCTCAGGGCC
GGCGGTGCTAACAAGCTTAGTGCCAGTGGAACCGGGACGGTGGCACCGCCTCGAGT
TGTCACGGCATTGGCGGCAGGGCACACTTTCTGTGGATGGCGAGGCTCCTGTTGTAG
GTGAAAGTCCGAGTGGCACTGATGGCCTCAACTTGGACACGAAGCTCTATGTGGGT
GGTCTCCCAGAAGAACAAGTTGCCACGGTGCTTGATCGGACCTCTGTGGGCATCGGC
CTGAAAGGATGCATTCGTATGTTGGACATCAACAACCAGCAGCTGGAGCTGAGCGA
TTGGCAGAGGGCTGTGGTTCAAAGCTCTGGTGTGGGGGAATGCGGAGACCATCCCT
GCTCACCTAACCCCTGCCATGGCGGGGGCCCTCTGCCAGGCCCTGGAGGCTGGCGTGT
TCCTCTGTCAGTGCCACCTGGCCGCTTTGGCCCAACTTGTGCAGATGAAAAGAACC
CCTGCCAACCGAACCCCTGCCACGGGTGAGCCCCCTGCCATGTGCTTTCCAGGGGTG
GGGCAAGTGTGCGTGCCCCCTGGGACGCAGTGGTTCCTTCTGTGAGACAGTCCTGG

AGAATGCTGGCTCCCGGCCCTTCCTGGCTGACTTTAATGGCTTCTCCTACCTGGAAC
 GAAAGGCTTGACACCTTCGAGAGAGACCTAGGGGAGAAGATGGCGCTGGAGATG
 GTGTTCTTGCTCGTGGGCCAGTGGCTTACTCCTCTACAATGGGCAGAAGACGGAT
 GGCAAGGGGGACTTTGTATCCCTGGCCCTGCATAACCGGCACCTAGAGTTCCGCTAT
 GACCTTGGAAGGGGGCTGCAATCATCAGGAGCAAAGAGCCCATAGCCCTGGGCAC
 CTGGGTTAGGGTATTCCTGGAACGAAATGGCCGCAAGGGTGCCCTTCAAGTGGGTG
 ATGGGGCCCCGTGTGCTAGGGGAATCTCCGAAATCCCGCAAGGTCCCGCACACCATG
 CTCAACCTCAAGGAGCCCCTCTATGTGGGGGGAGCTCCTGACTTCAGCAAGCTGGCT
 CGGGGCGCTGCAGTGGCCTCCGGCTTTGATGGTGCCATCCAGCTGGTGTCTCTAAGA
 GGCCATCAGCTGCTGACTCAGGAGCATGTGTTGCGGGCAGTAGATGTAGCGCCTTTT
 GCAGGCCACCCTTGTAACCAGGCCGTGGACAACCCCTGCCTTAATGGGGGGCTCCTGT
 ATCCCGAGGGAAGCCACTTATGAGTGCCTGTGTCCTGGGGGGCTTCTCTGGGCTGCAC
 TCGGAGAAGGGGATAGTTGAGAAGTCAGTGGGGGACCTAGAAACACTGGCCTTTGA
 TGGGCGGACCTACATCGAGTACCTCAATGCTGTGACTGAGAGCGAGCTGACCAATG
 AGATCCCAGCCCCCGAACTCTGGATTCCCGGGCCCTTTTCAGTGAGAAAGCGCTGC
 AGAGCAACCACTTTGAGCTGAGCTTACGCACTGAGGCCACGCAGGGGGCTGGTGCTG
 TGGATTGGAAAGGTTGGAGAACGTGCAGACTACATGGCTCTGGCCATTGTGGATGG
 GCACCTACAACTGAGCTATGACCTAGGCTCCCAGCCAGTTGTGCTGCGCTCCACTGT
 GAAGGTCAACACCAACCGCTGGCTTCGAGTCAGGGCTCACAGGGAGCACAGGGAAG
 GTCCCTTCAGGTGGGCAATGAAGCCCCTGTGACTGGCTCTTCCCCGCTGGGTGCCA
 CACAATTGGACACAGATGGAGCCCTGTGGCTTGGAGGCCTACAGAAGCTTCCTGTG
 GGGCAGGCTCTCCCCAAGGCCTATGGCACGGGTTTTGTGGGCTGTCTGCGGGACGTG
 GTAGTGGGCCATCGCCAGCTGCATCTGCTGGAGGACGCTGTCACCAAACAGAGCT
 AAGACCCTGCCCCACTCTCTGA

Агрин мышцы

(SEQ ID NO: 113)

MPPLPLEHRPRQQPGASVLVRYFMIPCNICLILLATSTLGFAVLLFLSNYKPGIHFT
 AAPSMPPDVCRGMLCGFGAVCEPSVEDPGRASCVCKKNVCPAMVAPVCGSDASTYSN
 ECELQRAQC�QRRIRLLRQGPCGSRDPCANVTCSFGSTCVPSADGQTASCLCPTTCFG
 APDGTVCSDGVDYPSECQLLRHACANQEHIFKKFDGPCDPCQGSMSDLNHICRVNPRT
 RHPEMLLRPENCPAQHPTPICGDDGVTYENDCVMSRIGAARGLLLQKVRSGQCQTRDQC
 PETCQFNSVCLSRGRPHCSCDRVTCDGAYRPVCAQDGHTYDNDWCWRQQAECRQQQTI
 PPKHQGPCDQTPSPCRGAQCAFGATCTVKNGKAVCECQRVCSGGYDPVCGSDGVTYGS
 VCELESMAC TLGREIRVARRGPCDRCGQCRFGSLCEVETGRCVCPSECVE SAQPVCSD
 GHTYASECELHVHACTHQISLYVASAGHCQTCGETVCTFGAVCSAGQCVCPRCEHPPPG
 PVCSDGVTYLSACELREAACQQQVQIEEARAGPCEPAECGSGGSGSGEDNACEQELCR
 QHGGVWDEDESDGPCVCD FSCQSVLKSPVCGSDGVTYSTECHLKKARCEARQELYVA
 AQGACRGPTLAPLLPMASPHCAQTPYGCCQDNVTA AQGVGLAGCPSTCHCNPHGSYSG
 TCDPVTGQCSCRPGVGGLRCDRCEPGFWNFRGIVTDGHS GCTPCSCDPRGAVRDDCEQ
 MTGLCSCRPGVAGPKCGQCPDGQALGHLGCEADPTTPVTCVEMHCEFGASCVEEAGFA

QCVCPTLTCPEANSTKVCSDGVTYGNECQLKTIACRQRLDISIQSLGPCRESVAPGVSP
 TSASMTTPRHILSRTLASPHSSLPLSPSTTAHDWPTPLTSPQTVVGTPRSTAATPSDVASL
 ATAFRESGSTNGSGDEELSGDEEASGGGSGGLEPPVGSVVVTHGPPIERASCYNSPLGC
 CSDGKTPSLDSEGSNCPATKAFQGVLELEGVEGQELFYTPEMADPKSELFGETARSIEST
 LDDLFRNSDVKKDFWSIRLRELGPGLVRAIVDVHFDPTTAFQAPDVGQALLQQIQVSR
 PWALAVRRPLREHVRFLDFDWFPTFFTGAATGTAAVATARATTVSRLSASSVTPRVYP
 SYTSRPVGRRTTAPLTTRRPPTTTASIDRPRTPGPQRPPKSCDSQPCLHGGTCQDLDSGKGF
 SCSTAGRAGTVCEKVQLPSVPAFKGHSFLAFPTLRAYHTLRRLALEFRALETEGLLLYN
 GNARGKDFLALALLDGHVQFRFDTGSGPAVLTSVPVEPGRWHRLELSRHRWQGTLSV
 DGEAPVVGESPSGTDGLNLDTKLYVGGLPEEQVATVLDRTSVGIGLKGCIIRMLDINNQQ
 LELSDWQRAVVQSSGVGECGDHPCSPNPCHGGALCQALEAGVFLCQCPPGRFGPTCAD
 EKNPCQPNPCHGSAPCHVLSRGGAKCACPLGRSGSFCETVLENAGSRPFADFNGFSYLE
 LKGLHTFERDLGEKMALEMVFLARGPSGLLLYNGQKTDGKGDFVSLALHNRHLEFRYD
 LGKGAAIIRSKEPIALGTWVRVFLERNRKGALQVGDGPRVLGESPKSRKVPHTMLNLK
 EPLYVGGAPDFSKLARGAAVASGFDGAIQLVSLRGHQLLTQEHVLRVAVDVAPFAGHPC
 TQAVDNPCLNNGSCIPREATYECLCPGGFSGLHCEKGIVEKSVGDLETLAFDGRTYIEYL
 NAVTESELTNEIPAPETLDSRALFSEKALQSNHFELSLRTEATQGLVLWIGKVGERADYM
 ALAIVDGHLLQSYDLGSQPVVLRSTVKVNTNRWLRVRAHREHREGSLQVGNEAPVTGS
 SPLGATQLDTDGALWLGGGLQKLPVGQALPKAYGTGFVGCLRDVVVGHRQLHLLLEDAV
 TKPELRPCPTL

IL10 мыши

(SEQ ID NO: 114)

ATGCCTGGCTCAGCACTGCTATGCTGCCTGCTCTTACTGACTGGCATGAGGAT
 CAGCAGGGGCCAGTACAGCCGGAAGACAATAACTGCACCCACTTCCCAGTCGGCC
 AGAGCCACATGCTCCTAGAGCTGCGGACTGCCTTCAGCCAGGTGAAGACTTTCTTTC
 AAACAAAGGACCAGCTGGACAACATACTGCTAACCGACTCCTTAATGCAGGACTTT
 AAGGGTTACTTGGGTTGCCAAGCCTTATCGGAAATGATCCAGTTTTACCTGGTAGAA
 GTGATGCCCCAGGCAGAGAAGCATGGCCCAGAAATCAAGGAGCATTTGAATTCCCT
 GGGTGAGAAGCTGAAGACCCTCAGGATGCGGCTGAGGCGCTGTCATCGATTTCTCC
 CCTGTGAAAATAAGAGCAAGGCAGTGGAGCAGGTGAAGAGTGATTTTAATAAGCTC
 CAAGACCAAGGTGTCTACAAGGCCATGAATGAATTTGACATCTTCATCAACTGCATA
 GAAGCATAACATGATGATCAAAATGAAAAGCTAA

IL10 мыши

(SEQ ID NO: 115)

MPGSALLCCLLLLTGMRISRGQYSREDNNCTHFPVGQSHMLLELRTAFSQVKTFE
 QTKDQLDNILLTDSLMQDFKGYLGCAQALSEMIQFYLVVEMPQAEKHGPEIKEHLNSLGE
 KLKTLRMLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKSDFNKLQDQGVYKAMNEFDIFINCIEAYM
 MIKMKS

MYDGF мыши (C19orf10)

(SEQ ID NO: 116)

ATGGCAGCCCCCAGCGGAGGCTTCTGGACTGCGGTGGTCCTGGCGGCCGCAG
 CGCTGAAATTGGCCGCCGCTGTGTCCGAGCCCACCACCGTGCCATTTGACGTGAGGC
 CCGGAGGGGTCGTGCATTCGTTCTCCCAGGACGTAGGACCCGGGAACAAGTTTACA
 TGTACATTCACCTACGCTTCCCAAGGAGGGACCAACGAGCAATGGCAGATGAGCCT
 GGGGACAAGTGAAGACAGCCAGCACTTTACCTGTACCATCTGGAGGCCCCAGGGGA
 AATCCTACCTCTACTTCACACAGTTCAAGGCTGAGTTGCGAGGTGCTGAGATCGAGT
 ATGCCATGGCCTACTCCAAAGCCGCATTTGAGAGAGAGAGTGATGTCCCCCTGAAA
 AGTGAGGAGTTTGAAGTGACCAAGACAGCAGTGTCTCACAGGCCTGGGGCCTTCAA
 AGCTGAGCTCTCCAAGCTGGTGATCGTAGCCAAGGCGGCACGCTCGGAGCTGTGA

MYDGF мыши (C19orf10)

(SEQ ID NO: 117)

MAAPSGGFWTAVVLAAAALKLAAAVSEPTTVPFDVRPGGVVHSFSQDVGPNGK
 FTCTFTYASQGGTNEQWQMSLGTSEDSQHFTCTIWRPQGKSYLYFTQFKAELRGAEIEY
 AMAYSKAAFERESDVPLKSEEFVTKTAVSHRPGAFKAELSKLVIVAKAARSEL

pWF-521

(SEQ ID NO: 118)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
 TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
 ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
 CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
 GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
 TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCA
 GCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCCAAGC
 CAACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCTACCCGGGAGCTGTGACAGT
 GGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCAAACCCT
 CCAAACAGAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCCGAG
 CAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACGCATGAAGGGAGCACCGT
 GGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTTCAGGCGCCGGATCTGGTGGAACTGGA
 GTCATCCCCAATTCGAGAAGGGCGGAAGCGGTGGGAGTGGCGGGTCCGGTGGAAAGC
 AACTGGTCACACCCACAATTCGAGAAAGGCGGTTCTGGCGGATCTGGTGGATCTGG
 CGGAAGTAACTGGTCTCATCCTCAATTCGAAAAGGGCGGAAGCGGTGGCGGCAGGC
 TAGGTGGAGGCTCAGTGCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG
 CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTAT
 GCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTAT
 TTATAGCGGTGGTAGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCAT
 CTCCAGAGATAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCG
 AGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACT
 GGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCT
 TCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC
 TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTG

ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
 AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA
 CGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC
 TGCACAAAGACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACC
 CTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCC
 CGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCA
 ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGA
 GCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACT
 GGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCC
 ATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACA
 CCCTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGG
 TGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCC
 GAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCT
 GTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCACT
 GCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTG
 TCCCCCGAGCTGCAACTGGAGGAGAGCTGTGCGGAGGCGCAGGACGGGGAGCTGG
 ACGGGCTGTGGACGACCATCACCATCTTCATCACACTCTTCTGTTAAGCGTGTGCT
 ACAGTGCCACCGTCACCTTCTTCAAGGTGAAGTGGATCTTCTCCTCGGTGGTGGACC
 TGAAGCAGACCATCATCCCCGACTACAGGAACATGATCGGACAGGGGGCCTGA

pWF-521

(SEQ ID NO: 119)

QSVLTQPPSVSAAPGQRTVISCSTGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNL
 PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGQPK
 ANPTVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN
 NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSGAGSGGNWSHPQFEK
 GSGSGSGSGSGSNWSHPQFEKGGSGSGSGSGSGSNWSHPQFEKGGSGGGRLGGGSVQV
 QLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYY
 ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARTSYLNHGDIYWGQGT LTVVSS
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPSELQLEESCAEAQDGELDGLWTTITIFITL
 FLLSVCYSATVTFFKVKWIFSSVVDLKQTIIPDYRNMIGQGA

pWF-533

(SEQ ID NO: 120)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
 TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
 ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC

CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
 GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
 TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAAtcttcaGC
 CTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
 GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG
 TGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTAC
 AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG
 GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
 AAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGC

pWF-533

(SEQ ID NO: 121)

QSVLTQPPSVSAAPGQRVITISCSGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLNLR
 PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLSSAS
 TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
 YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC

pWF-534

(SEQ ID NO: 122)

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
 TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
 TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
 AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
 TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
 TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
 CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCTCCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC
 ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTT
 CTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA
 ACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC
 AGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGA
 AGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT
 GTGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCC
 TCCGTGTTCTGTTCCCCCCTAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCC
 GAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAA
 CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAG
 CAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTG
 GCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCA
 TCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC
 CTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTG
 AAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCCGA
 GAACAACCTACAAGACCAACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGT
 ACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGCTGC

AGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTC
 CCCCAGAGCTGCAACTGGAGGAGAGCTGTGCGGAGGCGCAGGACGGGGAGCTGGAC
 GGGCTGTGGACGACCATCACCATCTTCATCACACTCTTCCTGTTAAGCGTGTGCTAC
 AGTGCCACCGTCACCTTCTTCAAGGTGAAGTGGATCTTCTCCTCGGTGGTGGACCTG
 AAGCAGACCATCATCCCCGACTACAGGAACATGATCGGACAGGGGGCCTGA

pWF-534

(SEQ ID NO: 123)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYS
 GGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQ
 GTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
 SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKT
 HTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
 EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
 SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPELQLEESCAEAQD
 GELDGLWTTITIFITLFLLSVCYSATVTFFKVKWIFSSVVDLKQTIIPDYRNMIGQGA

IL15 мыши

(SEQ ID NO: 124)

ATGAAAATTTTGAAACCATATATGAGGAATACATCCATCTCGTGCTACTTGTG
 TTCCTTCTAAACAGTCACTTTTTAACTGAGGCTGGCATTATCATGTCTTCATTTTGGGC
 TGTGTCAGTGTAGGTCTCCCTAAAACAGAGGCCAACTGGATAGATGTAAGATATGA
 CCTGGAGAAAATTGAAAGCCTTATTCAATCTATTCATATTGACACCACTTTATACAC
 TGACAGTGACTTTCATCCCAGTTGCAAAGTTACTGCAATGAACTGCTTTCTCCTGGA
 ATTGCAGGTTATTTTACATGAGTACAGTAACATGACTCTTAATGAAACAGTAAGAAA
 CGTGCTCTACCTTGCAAACAGCACTCTGTCTTCTAACAAGAATGTAGCAGAATCTGG
 CTGCAAGGAATGTGAGGAGCTGGAGGAGAGAAAACCTTCACAGAGTTTTTGCAAAGCT
 TTATACGCATTGTCCAAATGTTTCATCAACACGTCC

IL15 мыши

(SEQ ID NO: 125)

MKILKP YMRNTSISCYLCFLN SHFLTEAGIHVFILGCVSVGLPKTEANWIDVRYD
 LEKIESLIQSIHIDTTLYTDSDFHP SCKVTAMNCFLELQVILHEYSNMTLNETVRNVLYL
 ANSTLSSNKNVAESGCKECEEELEKTFTEFLQSFIRIVQMFINTS

CAR к GPC3 человека (79a)

(SEQ ID NO: 126)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGG
 TCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGT
 ACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGAC
 CCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGG
 GCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGGAT
 TACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCT

AGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGAT
 GGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCC
 TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG
 TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGT
 AGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAA
 TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG
 TATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGGTA
 CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCGCTGCAGTGGTCCCCGTGCTGCAGAAAGTTAATAGC
 ACCACCACTAAACCTGTCCTGAGGACTCCTAGTCCAGTGCACCCAACAGGGACCAGTCAG
 CCACAGAGACCGGAAGACTGCAGACCAAGAGGTTCAGTGAAGGGAACCGGCCTGGATTT
 CGCCTGCGATTTTTTGGGCCCTGGTCGTCGTCGCAGGAGTTTTGTTTTGCTATGGACTG
 CTCGTACAGTTGCTTTGTGTGTTATCTGGACAAGGAAACGGTGGCAAAATGAGAAGTT
 TGGGGTGGACATGCCAGATGACTATGAAGATGAAATCTCTATGAGGGCCTGAACCTTGA
 TGA CTGTTCTATGTATGAGGACATCTCCAGGGGACTCCAGGGCACCTACCAGGATGTGGG
 CAACCTCCACATTGGAGATGCCCAGCTGGAAAAGCCATGA

CAR к GPC3 человека (79a)

(SEQ ID NO: 127)

QSVLTQPPSVSAAPGQRTVISCSTGTRSNIGSDYVSWYQHLPGTAPKLLVYGDNLNLR
 PSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDYTLNGVVFGGGTKLTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ
 APGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
 RTSYLNHGDYWGQGLVTVSSAAAVPVLQKVNSTTTKPVLRTPSPVHPTGTSQPQRPED
 CRPRGSVKGTGLDFACDFWALV VVAGVLCYGLLVTVALCVIWRKRWQNEKFGVDMP
 DDYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGTYQDVGNLHIGDAQLEKP

CAR 79a к PSMA(XENP14484) человека

(SEQ ID NO: 128)

GAGGTTCAACTTGTTCAATCTGGGGCAGAAGTGAAGAAGCCCCGGGGCATCTG
 TGAAAGTATCATGCAAAACATCCGGCTATACGTTTACCGAATACACCATTCACTGGG
 TCAGACAGGCTCCCGGTCAAAGCCTCGAATGGATGGGAAATATTAACCCTAACAAT
 GGCGGAACCATATAATCAGAAATTCCAAGGCCGAGTGACGATAACTGTCGATAA
 GAGTACGTCCACAGCTTACATGGAACCTCAGCTCTTTGAGATCCGAAGACACTGCAGT
 TTATTATTGTGCAGCTGGATGGAACCTTCGACTATTGGGGACAAGGGACTCTTGTTAC
 GGTGTCCAGTGGCAAACCAGGTAGTGGTAAACCCGGAAGCGGCAAGCCCCGGGAGC
 GGTAACCTGGTAGCGACATCGTCATGACTCAAAGCCCTGACTCACTCGCCGTGAGC
 CTGGGAGAGCGTGCAACGCTATCTTGTGCGGCCTCTCAGGATGTGCGGAACCTGCTGTA
 GACTGGTATCAACAGAAACCTGACCAATCACCAAAACTCCTGATTTATTGGGCCTCA
 ACACGTACACAGGAGTGCCAGATAGGTTACAGGTAGTGGCAGTGGAACCTGATTT
 TACTTTGACAATTAGCAGCCTGCAAGCCGAAGATGTAGCCGTTTACTTCTGTCAACA
 ATATAACTCATACCCACTAACGTTCCGGTGCCGGGACGAAGGTAGAGATTAAAGTGG
 TCCCCGTGCTGCAGAAAGTTAATAGCACCACTAAACCTGTCCTGAGGACTCCTAGTCC

AGTGCACCCAACAGGGACCAGTCAGCCACAGAGACCGGAAGACTGCAGACCAAGAGGTT
 CAGTGAAGGGAACCGGCCTGGATTTTCGCCTGCGATTTTTGGGCCCTGGTCGTCGTCGCA
 GGAGTTTTGTTTTGCTATGGACTGCTCGTCACAGTTGCTTTGTGTGTTATCTGGACAA
 GGAAACGGTGGCAAAATGAGAAGTTTGGGGTGGACATGCCAGATGACTATGAAGATGAAA
 ATCTCTATGAGGGCCTGAACCTTGATGACTGTTCTATGTATGAGGACATCTCCAGGGGACT
 CCAGGGCACCTACCAGGATGTGGGCAACCTCCACATTGGAGATGCCCAGCTGGAAAAGC
 CATGA

CAR 79a к PSMA(XENP14484) человека

(SEQ ID NO: 129)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTEYTIHWVRQAPGQSLEWMGNINP
 NNGGTTYNQKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAAGWNFDYWGQGTL
 VTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATLSCRASQDVGTAVD
 WYQQKPDQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQYNS
 YPLTFGAGTKVEIKVVPVLQKVNSTTKPVLRTSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGL
 DFACDFWALVVVAGVLFYGLLVTVALCVIWTRKRWQNEKFGVDMPPDDYEDENLYEGL
 NLDDCSMYEDISRGLQGTQDVGNLHIGDAQLEKP

IL 12a мыши-Fc IgG2a мыши

(SEQ ID NO: 130)

ATGTGTCAGTCACGCTATCTTCTCTTCCTTGCTACTCTGGCCTTGCTCAATCAC
 TTGTCCCTTGCTCGTGTGATTCCTGTGTCCGGCCCAGCTAGGTGTCTCTCCAGTCAC
 GGAATCTCCTGAAAACACGGATGACATGGTAAAGACAGCTAGGGAGAAACTCAAG
 CACTACTCCTGCACAGCTGAGGATATCGATCATGAGGACATCACCAGGGACCAGAC
 ATCCACTCTGAAAACCTGCCTGCCTTTGGAACCTCCACAAGAACGAATCTTGTCTGGC
 AACGCGTGAAACGAGTTCTACTACAAGAGGGTCCTGTCTTCCCCCTCAAAAGACAA
 GCCTTATGATGACCTTGTGTCTCGGTAGCATTTATGAGGACCTAAAGATGTATCAAA
 CCGAGTTTCAGGCTATCAATGCAGCGCTCCAGAATCATAACCATCAGCAGATCATTC
 TTGACAAAGGAATGCTCGTGGCCATTGATGAACTAATGCAGAGCCTAAACCACAAT
 GGCGAGACTCTTCGACAGAAACCGCCTGTGGGCGAGGCCGATCCATATAGAGTCAA
 AATGAAACTGTGTATTCTCCTGCATGCATTTAGTACTCGTGTAGTGACTATTAACAG
 AGTGATGGGTTACCTTTCTCCTCAGCTCCCAGAGGGGCCACAATCAAGCCCTGTCCTCC
 ATGCAAATGCCCAGCACCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCC
 AAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGT
 GGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCAGCTGGTTTTGTGAACAACGTGG
 AAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTCCGG
 GTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAA
 ATGCAAGGTCAACAACAAGACCTCCCAGCGCCCATCGAGAGAACCATCTCAAAAC
 CCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAG
 ATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCACAGACTTCATGCCTGAAGA
 CATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACAGAGCTAAACTACAAGAACTG
 AACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAA

AGAAGAACTGGGTGGAAAGAAATAGCTACTCCTGTTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTG
CACAATCACACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACTCCGGGTAAATAG

IL 12a мыши-Fc IgG2a мыши

(SEQ ID NO: 131)

MCQSRYLFLATLALLNHLNHLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTTDDMVKTAREK
LKHYSCTAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTSML
MTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLR
QKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSAPRGPTIKPCPPCKCPAPNL
LGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHRE
DYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP
PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSFMYSKLR
VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK*

IL 12b мыши-Fc IgG2a мыши

(SEQ ID NO: 132)

ATGTGCCCACAGAACTCACAATTTCTTGGTTCGCAATCGTCCTGCTGGTGTG
ACCCCTGATGGCAATGTGGGAGTTGGAAAAGGATGTATACGTCGTCGAGGTGCGACT
GGACACCTGACGCTCCGGGTGAACTGTCAACCTCACTTGCGATACTCCTGAAGAG
GACGACATCACGTGGACGAGCGACCAGCGACATGGAGTGATAGGGTCTGGCAAGAC
GCTTACTATCACGGTTAAGGAATTTCTCGACGCAGGGCAGTACACATGTCACAAGG
GCGGCGAGACTCTGAGCCACTCCCATTTGCTGCTGCACAAGAAGGAGAATGGTATC
TGGTCTACCGAAATCCTGAAGAATTTTAAGAACAAGACTTTTCTGAAATGCGAGGCC
CCAAATTATTCCGGACGTTTCACTTGCAGTTGGCTCGTTCAAAGAAATATGGACTTG
AAATTTAACATTAAATCCAGCTCTTCATCTCCTGACAGCAGGGCCGTAACCTTGTGGA
ATGGCTTCATTGTCAGCTGAGAAAGTTACGCTTGACCAAAGGGATTATGAGAAATA
CAGCGTGAGTTGCCAGGAAGATGTGACATGTCCAACGGCAGAGGAAACGTTGCCAA
TTGAGCTCGCTTTGGAAGCTCGTCAACAAAACAAGTATGAAAACCTATAGTACTAGCT
TCTTCATACGGGACATCATCAAACCAGATCCACCTAAGAATTTGCAGATGAAGCCTC
TGAAGAATTCACAAGTCGAGGTATCCTGGGAATACCCAGATTCATGGTCCACTCCTC
ATAGTTACTTTAGCCTGAAATTCCTTGTACGCATACAGCGGAAGAAGGAGAAAATG
AAGGAGACGGAAGAAGGCTGCAATCAGAAAGGCGCTTTTCTTGTTGAAAAGACGAG
CACTGAGGTTCAATGCAAAGGCGGGAATGTATGTGTTCAAGCCCAAGATAGGTATT
ATAATAGCTCCTGCTCTAAGTGGGCTTGCGTACCATGCAGAGTTAGAAGTCCCAGAG
GGCCCACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATGCCAGCACCTAACCTCTTGGGTG
GACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGA
GCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAG
ATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAG
AGAGGATTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAGG
ACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAAGACCTCCCAGCG
CCCATCGAGAGAACCATCTCAAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATA
TGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCA

TGGTCACAGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAA
 ACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTC
 ATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACTGGGTGGAAAGAAATAGCTACT
 CCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCC
 GGACTCCGGGTAAATAG

IL 12b мыши-Fc IgG2a мыши

(SEQ ID NO: 133)

MCPQKLTISWFAIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTP
 EEDDITWTS DQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENGW
 STEILKNFKNKTFLKCEAPNYSGRFTCSWLVRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGMASL
 SAEKVTL DQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIKP
 DPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETE EGCNQK
 GAFLVEKTSTEVQCKGGNV CVQAQDRYYNSSCSKWACVPCRVRSPRGPTIKPCPPCKCP
 APNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVNNVEVHTAQTQ
 THREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVY
 VLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMY
 SKLRVEKKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

IL 12a мыши-Fc IgG2a мыши (с подавленной активностью)

(SEQ ID NO: 134)

ATGTGTCAGTCACGCTATCTTCTCTTCCTTGCTACTCTGGCCTTGCTCAATCAC
 TTGTCCCTTGCTCGTGTGATTCTGTGTCCGGCCCAGCTAGGTGTCTCTCCAGTCAC
 GGAATCTCCTGAAAACACGGATGACATGGTAAAGACAGCTAGGGAGAACTCAAG
 CACTACTCCTGCACAGCTGAGGATATCGATCATGAGGACATCACCAGGGACCAGAC
 ATCCACTCTGAAAACCTGCCTGCCTTTGGA ACTCCACAAGAACGAATCTTGTCTGGC
 AACGCGTGAAACGAGTTCTACTACAAGAGGGTCCTGTCTTCCCCCTCAAAAGACAA
 GCCTTATGATGACCTTGTGTCTCGGTAGCATTTATGAGGACCTAAAGATGTATCAAA
 CCGAGTTTCAGGCTATCAATGCAGCGCTCCAGAATCATAACCATCAGCAGATCATTC
 TTGACAAAGGAATGCTCGTGGCCATTGATGAACTAATGCAGAGCCTAAACCACAAT
 GGCGAGACTCTTCGACAGAAACCGCCTGTGGGCGAGGCCGATCCATATAGAGTCAA
 AATGAAACTGTGTATTCTCCTGCATGCATTTAGTACTCGTGTAGTGACTATTAACAG
 AGTGATGGGTTACCTTTCTCCTCAGCTCCCAGAGGGGCCACAATCAAGCCCTGTCCTCC
 ATGCAAATGCCCAGCACCTAACGCTGCCGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCC
 AAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGT
 GGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGG
 AAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTCCGG
 GTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAA
 ATGCAAGGTCAACAACAAGACCTCGGAGCGCCCATCGAGAGAACCATCTCAAAAC
 CCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAG
 ATGACTAAGAAACAGGTC ACTCTGACCTGCATGGTCACAGACTTCATGCCTGAAGA
 CATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACAGAGCTAAACTACAAGAACACTG

AACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGA
 AGAAGAACTGGGTGGAAAGAAATAGCTACTCCTGTTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTG
 CACAATCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACTCCGGGTAAATGA

IL 12a мыши-Fc IgG2a мыши (с подавленной активностью)

(SEQ ID NO: 135)

MCQSRYLFLATLALLNHLNHLARVIPVSGPARCLSQSRNLLKTTDDMVKTAREK
 LKHYSCTAEDIDHEDITRDQTSTLKTCLPLELHKNESCLATRETSSTTRGSCLPPQKTS
 LMTLCLGSIYEDLKMYQTEFQAINAALQNHNHQQIILDKGMLVAIDELMQSLNHNGETLR
 QKPPVGEADPYRVKMKLCILLHAFSTRVVTINRVMGYLSSAPRGPTIKPCPPCKCPAPNA
 AGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNVEVHTAQTQTHRE
 DYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP
 PEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDSYFMYSKLR
 VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK*

IL 12b мыши-Fc IgG2a мыши (с подавленной активностью)

(SEQ ID NO: 136)

ATGTGCCCCACAGAACTCACAATTTCTTGGTTCGCAATCGTCCTGCTGGTGTC
 ACCCCTGATGGCAATGTGGGAGTTGGAAAAGGATGTATACGTCGTCGAGGTCGACT
 GGACACCTGACGCTCCGGGTGAACTGTCAACCTCACTTGCGATACTCCTGAAGAG
 GACGACATCACGTGGACGAGCGACCAGCGACATGGAGTGATAGGGTCTGGCAAGAC
 GCTTACTATCACGGTTAAGGAATTTCTCGACGCAGGGCAGTACACATGTCACAAGG
 GCGGCGAGACTCTGAGCCACTCCCATTGCTGCTGCACAAGAAGGAGAATGGTATC
 TGGTCTACCGAAATCCTGAAGAATTTTAAGAACAAGACTTTTCTGAAATGCGAGGCC
 CCAAATTATTCCGGACGTTTCACTTGACGTTGGCTCGTTCAAAGAAATATGGACTTG
 AAATTTAACATTAAATCCAGCTCTTCATCTCCTGACAGCAGGGCCGTAAGTTGTGGA
 ATGGCTTCATTGTCAGCTGAGAAAGTTACGCTTGACCAAAGGGATTATGAGAAATA
 CAGCGTGAGTTGCCAGGAAGATGTGACATGTCCAACGGCAGAGGAAACGTTGCCAA
 TTGAGCTCGCTTTGGAAGCTCGTCAACAAAACAAGTATGAAAACCTATAGTACTAGCT
 TCTTCATACGGGACATCATCAAACCAGATCCACCTAAGAATTTGCAGATGAAGCCTC
 TGAAGAATTCACAAGTCGAGGTATCCTGGGAATACCCAGATTCATGGTCCACTCCTC
 ATAGTTACTTTAGCCTGAAATTTCTTTGTACGCATACAGCGGAAGAAGGAGAAAATG
 AAGGAGACGGAAGAAGGCTGCAATCAGAAAGGCGCTTTTCTTGTTGAAAAGACGAG
 CACTGAGGTTCAATGCAAAGGCGGGAATGTATGTGTTCAAGCCCAAGATAGGTATT
 ATAATAGCTCCTGCTCTAAGTGGGCTTGCGTACCATGCAGAGTTAGAAGTCCCAGAG
 GGCCCAACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATGCCAGCACCTAACGCTGCCGGTG
 GACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCCCTGA
 GCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAG
 ATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAG
 AGAGGATTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAAGG
 ACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAGACCTCGGAGCG
 CCCATCGAGAGAACCATCTCAAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATA

TGTCTTGCCTCCACCAGAAGAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCCTCTGACCTGCA
TGGTCACAGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAA
ACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCAGTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTC
ATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAAGCTGGGTGGAAAGAAATAGCTACT
CCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCC
GGACTCCGGGTAAATGA

IL 12b мыши-Fc IgG2a мыши (с подавленной активностью)

(SEQ ID NO: 137)

MCPQKLTIWFIVLLVSPLMAMWELEKDVYVVEVDWTPDAPGETVNLTCDTP
EEDDITWTSQDQRHGVIGSGKTLTITVKEFLDAGQYTCHKGGETLSHSHLLLHKKENGIW
STEILKNFNKNTFLKCEAPNYSGRFTCSWLVRNMDLKFNIKSSSSSPDSRAVTCGMASL
SAEKVTLDQRDYEKYSVSCQEDVTCPTAEETLPIELALEARQQNKYENYSTSFFIRDIKP
DPPKNLQMKPLKNSQVEVSWEYPDSWSTPHSYFSLKFFVRIQRKKEKMKETEEGCNQK
GAFLVEKTSTEVQCKGGNVCVQAQDRYYNSSCSKWACVPCRVRSPRGPTIKPCPPCKCP
APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVNNNEVHTAQQT
THREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVY
VLPPPEEEMTKKQVTLCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGGSYFMY
SKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

Цитоплазматический домен CD3 дзета - человеческий

(SEQ ID NO: 138)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPQRR
KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ
ALPPR

Цитоплазматический домен CD3 дзета - человеческий

(SEQ ID NO: 139)

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAG
AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGA
CAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGCAGAGAAGGAAGAAC
CCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAG
TGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACC
AGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTG
CCCCCTCGCTAA

pWF-506

(SEQ ID NO: 140)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVS
WYQHLPGTAPKLLVYGDNLPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWD
YTLNGVVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKN
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGTLVTVSSPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR

EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPELQLEESCAEAQDGELDGLWTTITIFITLFLLSVCYSATVTFFKVKWIFSSVVDLKQTIIPDYRNMIGQGA

pWF-506

(SEQ ID NO: 141)

ATGGAAACCGATACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGATCTACCGGTCAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCTGGTACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGCGACCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCTGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGGATTACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGTAGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGATAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGCCGTATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAGTACTCTGGTGACCGTGTCTAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTACGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGAGCTGCAACTGGAGGAGAGCTGTGCGGAGGCGCAGGACGGGGAGCTGGACGGGCTGTGGACGACCATCACCATCTTCATCACACTCTTCCTGTAAAGCGTGTGCTACAGTGCCACCGTCACCTTCTTCAAGGTGAAGTGGATCTTCTCCTCGGTGGTGGACCTGAAGCAGACCATCATCCCCGACTACAGGAACATGATCGGACAGGGGGCCTGA

pWF-507:

(SEQ ID NO: 142)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVS

WYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWD
YTLNGVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW
KADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV
APTECS

pWF-507:

(SEQ ID NO: 143)

ATGGAAACCGATACACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGAT
CTACCGGTCAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGA
GGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCT
GGTACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGC
GACCCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCC
TGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGG
GATTACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGG
TCAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCCA
AGCCAACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCTACCCGGGAGCTGTGAC
AGTGGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCAAA
CCCTCCAAACAGAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCC
CGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCA
CCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCATAG

pWF-508:

(SEQ ID NO: 144)

MVFTPQILGLMLFWISASRGQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS
WVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV
YYCARTSYLNHGDIYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
DKRVEPKSCDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPE
LQLEESCAEAQDGELDGLWTTITIFITLFLLSVCYSATVTTFFKVKWIFSSVVDLKQTIIPDY
RNMIGQGA

pWF-508:

(SEQ ID NO: 145)

ATGGTGTTTACACCGCAAATATTGGGGCTCATGCTTTTCTGGATCAGTGCAAG
CAGGGGACAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCT
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGT
GGTAGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGA
TAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGG
CCGTATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAG

GTACTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG
 CACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG
 GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGG
 CGTGACACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT
 GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACC
 ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAA
 GACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTT
 CCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGA
 CCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTAC
 GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACA
 ACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGTCACCAGGACTGGCTGAAC
 GGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCCATCGAAAA
 GACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCC
 CCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGC
 TTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAA
 CTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAA
 GCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCAGCGTGA
 TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGAG
 CTGCAACTGGAGGAGAGCTGTGCGGAGGGCGCAGGACGGGGAGCTGGACGGGCTGT
 GGACGACCATCACCATCTTCATCACACTCTTCCTGTTAAGCGTGTGCTACAGTGCCA
 CCGTCACCTTCTTCAAGGTGAAGTGGATCTTCTCCTCGGTGGTGGACCTGAAGCAGA
 CCATCATCCCCGACTACAGGAACATGATCGGACAGGGGGCCTGA

pWF-509:

(SEQ ID NO: 146)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSAAPGQRVTISCSGTRSNIGSDYVS
 WYQHLPGTAPKLLVYGDNLRPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWD
 YTLNGVVFVGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGT LVTVSSAAAFVPVFLPAKPTTTP
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLV
 TVAFIIFWVLDKDDSKAGMEEDHTYEGLDIDQTATYEDIVTLRTGEVKWSVGEHPGQE

pWF-509:

(SEQ ID NO: 147)

ATGGAAACCGATACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGAT
 CTACCGGTCACTGTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGA
 GGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCT
 GGTACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGC
 GACCCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCC
 TGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGG
 GATTACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGG

TTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCG
 AGATGGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG
 TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCT
 GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGT
 GGTAGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGA
 TAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGG
 CCGTATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAG
 GTACTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCGCTGCATTCGTGCCTGTGTTCCCTCCCAGCTAA
 GCCCACTACCACCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCCCGCTCCTACTATTGCTAGTCA
 GCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGCCGCCGGCGGCGCTGTGCACAC
 CAGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATTGGTAGTGGTGGGCGGAGTTTT
 AGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTATCATCTTTTGGGTGCTGGACAA
 GGATGACAGCAAGGCTGGCATGGAGGAAGATCACACCTACGAGGGCCTGGACATTG
 ACCAGACAGCCACCTATGAGGACATAGTGACGCTGCGGACAGGGGAAGTGAAGTG
 GTCTGTAGGTGAGCACCCAGGCCAGGAGTGA

pWF-510:

(SEQ ID NO: 148)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSAAPGQRTVISCSTGTRSNIGSDYVS
 WYQHLPGTAPKLLVYGDNLPSGIPDRFSASKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWD
 YTLNGVVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSYLNHGDYWGQGLTVTVSSAAAFVPVFLPAKPTTTP
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLV
 TVAFIIFWVRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGT YQDVG
 SLNIGDVQLEKP

pWF-510:

(SEQ ID NO: 149)

ATGGAAACCGATACTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGAT
 CTACCGGTCACTGTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGA
 GGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAACCAGGTCCAACATTGGGAGTGATTATGTTTCCT
 GGTACCAACACCTCCCAGGAACAGCCCCCAAACCTCCTCGTTTATGGCGATAATCTGC
 GACCCTCAGGGATTCTGACCGATTCTCTGCCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCC
 TGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGCACATGG
 GATTACACCCTGAATGGTGTGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGG
 TTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCG
 AGATGGCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGG
 TCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCT
 GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGT
 GGTAGTAGCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGA
 TAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGG

CCGTATATTACTGTGCGCGCACTTCTTACCTGAACCATGGTGATTACTGGGGTCAAG
 GTA CTCTGGTGACCGTGTCTAGCGCCGCTGCATTCGTGCCTGTGTTCCCTCCCAGCTAA
 GCCCACTACCACCCCCGCTCCAAGGCCGCCACGCCCGCTCCTACTATTGCTAGTCA
 GCCTTTAAGTTTACGACCCGAAGCTTGCAGGCCCGCCGCCGGCGGCGCTGTGCACAC
 CAGGGGGGCTTGATTTTGCCTGCGACTTTTGGGTATTGGTAGTGGTGGGCGGAGTTTT
 AGCCTGCTACAGCCTCCTGGTAACAGTGGCTTTTATCATCTTTTGGGTGAGGAAACG
 ATGGCAGAACGAGAAGCTCGGGTTGGATGCCGGGGATGAATATGAAGATGAAAAC
 CTTTATGAAGGCCTGAACCTGGACGACTGCTCCATGTATGAGGACATCTCCCGGGGC
 CTCCAGGGCACCTACCAGGATGTGGGCAGCCTCAACATAGGAGATGTCCAGCTGGA
 GAAGCCGTGA

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

[168] Все публикации, патенты и патентные заявки, упомянутые в данном описании, включены в настоящий документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или патентная заявка были специально и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки. Однако цитирование ссылочного источника в настоящем документе не следует рассматривать как подтверждение того, что такой ссылочный источник является прототипом настоящего изобретения. В той мере, в какой любые из определений или терминов, приведенных в ссылочных источниках, включенных посредством ссылки, отличаются от терминов и обсуждений, представленных в настоящем документе, настоящие термины и определения имеют преимущественную силу.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[169] Приведенное выше письменное описание считается достаточным для того, чтобы специалист в данной области техники мог использовать изобретение на практике. В вышеприведенном описании и примерах подробно описаны некоторые предпочтительные варианты осуществления изобретения и описан наилучший вариант, предусмотренный авторами изобретения. Следует, однако, принимать во внимание, что независимо от того, насколько подробно вышеизложенное может выглядеть в тексте, изобретение может быть реализовано многими способами, и изобретение должно быть истолковано в соответствии с прилагаемой формулой изобретения и любыми ее эквивалентами.

[170] Следующие примеры, включая проведенные эксперименты и полученные результаты, представлены только в иллюстративных целях и не должны рассматриваться как ограничивающие настоящее изобретение.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Конструкции химерного антигенного рецептора для В-клеток (CAR-B) для связывания PSMA.

[171] **Конструкции ДНК.** Были разработаны иллюстративные конструкции CAR-B для распознавания простатспецифического мембранного антигена («PSMA»). PSMA представляет собой антиген, экспрессия которого выше на клетках рака предстательной железы, чем на других нераковых клетках. Были созданы различные конструкции,

включающие внеклеточный домен, который содержал scFv, специфичный к PSMA, внеклеточную шарнирную область из CD8, трансмембранный домен CD28 и различные внутриклеточные сигнальные домены. Список конструкций приведен в таблице 6.

ТАБЛИЦА 6

Конструкция	Описание
pWF-82	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD19E (SEQ ID NO: 39 и 40)
pWF-83	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD40E (SEQ ID NO: 41 и 42)
pWF-84	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-h(CD40+CD79b)E (SEQ ID NO: 43 и 44)
pWF-85	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-h(CD40+CD137)E (SEQ ID NO: 45 и 46)
pWF-86	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-h(CD40+Fcγr2a)E (SEQ ID NO: 47)
pWF-87	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-h(hMyd88+CD40)E (SEQ ID NO: 48 и 49)
pWF-88	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79aE (SEQ ID NO: 50 и 51)
pWF-89	pTLPW-SFFV-XENP14484 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79bE (SEQ ID NO: 52 и 53)

[172] **Экспрессия CAR-B к PSMA на клетках HEK-293.** Конструкции, кодирующие pWF82-pWF89, использовали для получения лентивируса в клетках Lentix с использованием набора для приготовления лентивируса Takara. Экспрессию различных конструкций CAR-B измеряли с помощью проточной цитометрии с использованием антител, специфичных к PSMA (биотин-PSMA, Sinobiological), и результаты показаны на ФИГ. 5.

[173] **Экспрессия CAR-B к PSMA в В-клетках человека.** Для измерения экспрессии и связывания CAR-B к PSMA в В-клетках были созданы две дополнительные конструкции:

ТАБЛИЦА 7

Конструкция	Описание
pWF-391	промотор pMMLV(LTR)-hEF1a-анти hPSMA(XENP14484)-CBCR (SEQ ID NO: 54 и 55)
pWF-394	промотор pMMLV(LTR)-hEF1a-анти саркогликан CBCR1 (SEQ ID NO: 56 и 57)

[174] Для получения ретровируса использовали вектор на основе MMLV. Ретровирус использовали для заражения В-клеток мыши, выделенных из селезенки. После трансдукции В-клетки дополнительно размножали на фидерных клетках, экспрессирующих CD40L и растворимый IL-4. Экспрессию CAR-В PSMA определяли с использованием рекомбинантного биотина-PSMA. Меченый PE стрептавидин использовали для обнаружения связывания PSMA в клетках НЕК-293.

[175] **Результаты.** Результаты этого эксперимента представлены на ФИГ. 6 и демонстрируют, что можно создать мышиную В-клетку, экспрессирующую CAR-В, которая может специфично связываться с антигеном. Например, В-клетки, экспрессирующие pWF396 или pWF397, связывались с PSMA, тогда как В-клетки, экспрессирующие pWF394, не связывались с PSMA (pWF398 был разработан для связывания саркогликана, а не PSMA).

Пример 2. Конструкции химерного антигенного рецептора на В-клетках (CAR-В) для связывания GPC3.

[176] **Конструкция ДНК.** Были сконструированы иллюстративные конструкции CAR для распознавания глипикана-3 (GPC-3). Глипикан-3 экспрессируется на клетках гепатоклеточной карциномы среди других типов опухолей, но не на большинстве нераковых клеток. GPC3 может быть использован для нацеливания CAR к GPC3 на гепатоклеточную карциному, а также другие виды рака, при которых экспрессируется GPC3 (например, светлоклеточную карциному яичника, детские раковые заболевания, рак легкого (т. е. аденокарциному легкого и плоскоклеточный рак легкого), уротелиальную карциному, рак щитовидной железы, рак желудка и т. д.). Были созданы различные конструкции, включающие внеклеточный домен, который содержал scFv, специфичный к GPC-3, внеклеточную шарнирную область из CD8, трансмембранный домен CD28 и различные внутриклеточные сигнальные домены. Был сконструирован дополнительный CAR-В к PSMA в качестве контроля для этих экспериментов. Список конструкций приведен в таблице 8.

ТАБЛИЦА 8

Конструкция	Описание
pWF-396	промотор pMMLV(LTR)-hEF1a-анти-GPC3 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79aE (SEQ ID NO: 58 и 59)
pWF-397	промотор pMMLV(LTR)-hEF1a-анти-GPC3 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79bE (SEQ ID NO: 60 и 61)
pWF-398	промотор pMMLV(LTR)-hEF1a-анти-hPSMA(XENP14484) scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79aE (SEQ ID NO: 62 и 63)

[177] **Экспрессия анти-GPC-3 на клетке НЕК-293.** Лентивирусные трансдукции использовали для экспрессии белков CAR-В к GPC3 на поверхности клеток НЕК293. Экспрессию определяли с помощью проточной цитометрии с антиидиотипическим антителом, специфичным к GPC-3 (Eureka Therapeutics).

[178] **Экспрессия CAR-B к GPC-3 в В-клетках человека.** Кодированные конструкции CAR pWF 396, 397 и 398 использовали для получения ретровируса MMLV. Этот ретровирус использовали для трансдукции В-клеток мыши, выделенных с помощью негативной селекции (Stem Cell Technologies) и активированных в течение 24 часов путем совместного культивирования с клетками HeLa, экспрессирующими CD40L, и добавления растворимого IL-4. Через 48 часов после трансдукции экспрессию подтверждали с помощью проточной цитометрии. Экспрессию CAR-B обнаруживали с использованием антиидиотипического антитела к GPC3 человека. Антиидиотипическое антитело было получено от Eureka Therapeutics.

[179] **Результаты.** В-клетки мыши, экспрессирующие CAR-B к GPC-3, pWF-396 и 397, были экспрессированы и специфично связаны антиидиотипическим антителом к GPC3.

Пример 3. Вариант аденовируса F35, экспрессирующий GFP

[180] Было показано, что вариант аденовируса F35, экспрессирующий GFP, эффективно инфицирует В-клетки человека. В-клетки человека выделяли из периферической крови. В-клетки инфицировали аденовирусом, кодирующим GFP, в объеме 0, 1, 3, 10 мкл. Титр препаратов аденовируса составлял приблизительно 1×10^{12} частиц/мл.

Пример 4. Доставка полезных нагрузок в опухолевые клетки

[181] Проводили большое скрининговое исследование для изучения влияния полезных нагрузок на фибробласты NIH3T3 в модели CT26. Полезные нагрузки включали различные иммуномодуляторы, включая цитокины и хемокины. Сначала мышам BALB/c инъецировали опухоли CT26 в их левый и правый бок. См. ФИГ. 8. Двенадцать и шестнадцать дней спустя мышам вводили инъекции в опухоль в правом боку с различными комбинациями 4-5 полезных нагрузок. Объем опухолей измеряли в течение вплоть до 35 дней.

[182] **Получение модели опухоли BALB/C CT26.** В общей сложности 139 мышам инъецировали опухоли CT26 в их левый и правый бок.

[183] **Выбор полезной нагрузки.** Двенадцать пептидов были идентифицированы по их способности (i) рекрутировать и активировать дендритные клетки; (ii) инициировать хоминг и направление дендритных клеток и Т-клеток в место опухоли; и (iii) активировать эффекторные Т-клетки. Отобранные полезные нагрузки перечислены в таблице 9.

ТАБЛИЦА 9

Полезная нагрузка	SEQ ID NO:
FLT3L	70, 71
XCL1	72, 73
TIM4-Fc	74, 75
CXCL13	68, 69
mCCL21	92, 93

mCD80 - мембраносвязанный	86, 87
mCD40L - мембраносвязанный	88, 89
mlFNa A2	84, 85
mlL-12	80, 81
mlL-21	90, 91
мутант mLIGHT	78, 79
M4-1BBL - мембраносвязанный	76, 77
mlL-15	124, 125

[184] Каждой мыши давали либо комбинацию из 4-5 полезных нагрузок, либо все 12 полезных нагрузок, либо клетки 3Т3 (без полезной нагрузки), либо физиологический раствор в качестве контроля. Всего было двадцать семь групп (n=5 мышей/группа). Экспериментальные группы приведены в таблице 10.

ТАБЛИЦА 10

№ группы	Введение
1	FLT3L, XCL1, CXCL13, TIM4-Fc, TLR
2	FLT3L, XCL1, CXCL13, CD80-MB
3	FLT3L, XCL1, CXCL13, CD40L-MB, TLR
4	FLT3L, XCL1, CXCL13, IL-12 и TM
5	FLT3L, XCL1, CXCL13, 4-1BBL-MB
6	FLT3L, XCL1, CXCL13, IFNa A2
7	FLT3L, XCL1, LIGHT, TIM4-Fc
8	FLT3L, XCL1, LIGHT, CD80-MB
9	FLT3L, XCL1, LIGHT, CD40L-MB, TLR
10	FLT3L, XCL1, LIGHT, IL-12 и TM
11	FLT3L, XCL1, LIGHT, 4-1BBL-MB
12	FLT3L, XCL1, LIGHT, IFNa A2
13	FLT3L, XCL1, IL-21, TIM4-Fc
14	FLT3L, XCL1, IL-21, CD80-MB
15	FLT3L, XCL1, IL-21, CD40L-MB
16	FLT3L, XCL1, IL-21, IL-12 и TM
17	FLT3L, XCL1, IL-21, 4-1BBL-MB
18	FLT3L, XCL1, IL-21, IFNa A2
19	FLT3L, XCL1, CCL21, TIM4-Fc
20	FLT3L, XCL1, CCL21, CD80-MB
21	FLT3L, XCL1, CCL21, CD40L-MB

22	FLT3L, XCL1, CCL21, IL-12 и TM
23	FLT3L, XCL1, CCL21, 4-1BBL-MB
24	FLT3L, XCL1, CCL21, IFN α A2
25	Все полезные нагрузки
26	Физиологический раствор
27	Клетки 3t3 (без полезной нагрузки)

[185] **Дозирование.** На момент первой инъекции объем опухолей составлял от 100 мм³ до 150 мм³. Для групп, получивших 4 полезных нагрузки, каждую полезную нагрузку доставляли из расчета $2,5 \times 10^5$ клеток на инъекцию, всего 10^6 клеток. Для групп, получивших 5 полезных нагрузки, каждую полезную нагрузку доставляли из расчета [х] клеток на инъекцию, всего 3×10^6 клеток. Пятую полезную нагрузку вводили совместно с поли(I:C), аналогом двухцепочечной РНК. Полезные нагрузки вводили с помощью интратуморальной инъекции. Вводимый объем составлял 50 мкл для всех групп, кроме группы поли (I:C) и большой группы с 12 полезными нагрузками, где объем составлял 150 мкл.

[186] **Процедуры для введения полезных нагрузок.** Клетки собирали с версеном (не в присутствии трипсина). После сбора клетки подсчитывали, центрифугировали и ресуспендировали в объеме, который можно было довести до 20×10^6 /мл после повторного подсчета клеток. Обеспечивали агонист TLR (Invivogen, кат. № ODN:1826) путем ресуспендирования лиофилизированного порошка в воде. Агонист TLR ресуспендировали в концентрации 10 мг/мл и нагревали до 70 °С, а затем оставляли на 1 час при комнатной температуре перед использованием. Доза агониста TLR составляла 50 мкг в 50 мкл.

[187] **Результаты.** Результаты изображены на ФИГ. 9-11. Несколько комбинаций полезных нагрузок, введенных ипсилатерально, продемонстрировали противоопухолевую активность в контралатеральных опухолях, проявляющуюся в замедлении роста опухоли в этой модели. В группах 3, 8 и 21 наблюдалось наиболее значительное нарушение роста опухоли в течение 30 дней.

Пример 5. Модифицированные В-клетки, которые экспрессируют и секретируют полезные нагрузки.

[188] **План эксперимента.** Модель опухоли CT26 у мышей BALB/c использовали для оценки эффективности модифицированных В-клеток, экспрессирующих различную полезную нагрузку, в отношении объема опухоли и выживаемости. Мышам инъецировали опухолевые клетки в объеме 100 мкл. На 6 день, когда объем опухоли достигал 175 мм³, мышам вводили модифицированные В-клетки, экспрессирующие различные полезные нагрузки, как описано ниже. Объем опухолей и выживаемость измеряли в течение 17 дней.

[189] **Выделение РВМС мышей.** РВМС или спленоциты мышей выделяли из крови или селезенки, соответственно. РВМС выделяли с использованием лимфолит-М (CedarLane, кат. № CL5030). Спленоциты выделяли путем ручного разделения клеток

через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли из PBMC или спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep® (Stem Cell Technologies, кат. № 19854).

[190] **Выбор полезных нагрузок.** Последовательности нуклеиновых кислот, экспрессирующие пептиды или белки полезных нагрузок, трансфицировали или трансдуцировали в выделенные В-клетки. Следующие двенадцать пептидов были идентифицированы по их способности (i) рекрутировать и активировать дендритные клетки; (ii) инициировать хоминг и направление дендритных клеток и Т-клеток в место опухоли; и (iii) активировать эффекторные Т-клетки. Отобранные полезные нагрузки перечислены в таблице 9.

[191] Каждой мыши давали либо комбинацию из 4-5 полезных нагрузок или выделенные В-клетки (без полезной нагрузки), либо физиологический раствор в качестве контроля. Всего было двадцать семь групп (n=5 мышей/группа). Экспериментальные группы приведены в таблице 11.

ТАБЛИЦА 11

№ группы	Введение
3	FLT3L, XCL1, CXCL13, CD40L-MB, TLR
8	FLT3L, XCL1, mLIGHT, CD80-MB
21	FLT3L, XCL1, CCL21, CD40L-MB
26	Физиологический раствор
27	В-клетки (без полезной нагрузки)

[192] **Получение В-клеток, экспрессирующих полезную нагрузку** Для трансфекции очищенные или культивированные В-клетки промывали и суспендировали в среде Cytoporation Medium T (VTX, кат. № 47-0002) в концентрации от 5×10^6 до 25×10^6 клеток на мл и смешивали с 7,5-50 мкг РНК (конструкции РНК были разработаны и приготовлены самостоятельно или приобретены у TriLink с использованием CleanCap® и полностью замещены псевдо-U). 200 мкл суспензии клеток/РНК подвергали электропорации с использованием системы для электропорации VTX Agilpulse®.

[193] **Дозирование.** На момент первой инъекции объем опухолей составлял от 100 мм³ до 150 мм³. Для групп, получивших 4 полезных нагрузки, каждую полезную нагрузку доставляли из расчета $2,5 \times 10^5$ клеток на инъекцию для доставки в общей сложности 10^6 клеток. Для групп, получивших 5 полезных нагрузок, каждую полезную нагрузку доставляли из расчета $2,5 \times 10^5$ клеток на инъекцию для доставки в общей сложности $1,25 \times 10^6$ клеток. Полезные нагрузки инъецировали внутритуморально. Вводимый объем составлял 50 мкл для групп, получивших 4 полезных нагрузки, вводимый объем составлял 100 мкл для групп, получивших 5 полезных нагрузок.

[194] **Процедуры для введения полезных нагрузок.** Клетки собирали с версеном (не в присутствии трипсина). После сбора клетки подсчитывали, центрифугировали и ресуспендировали в объеме, который можно было довести до 20×10^6 /мл. Обеспечивали

агонист TLR (InvivoGen, кат. № ODN:1826) путем ресуспендирования лиофилизированного порошка в воде. Агонист TLR ресуспендировали в концентрации 10 мг/мл и нагревали до 70 °С, а затем оставляли на 1 час при комнатной температуре перед использованием. Доза агониста TLR составляла 50 мкг в 50 мкл.

Пример 6. Противоопухолевая активность внутритуморально инъецированных В-клеток

[195] Спленоциты мышей получали и выделяли путем ручного разделения клеток с использованием нейлонового сита для клеток на 70 мкм. Использовали аутологичных (BALB/c) или аллогенных (C57Bl/6) мышей-доноров (приведенные данные относятся к использованию аллогенных В-клеток). В-клетки выделяли из указанных выше спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с помощью набора для выделения В-клеток мыши EasySep® (Stem Cell Technologies®, кат. № 19854).

[196] В-клетки инъецировали либо (i) свежими, либо (ii) предварительно стимулированными в течение 16-24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышинового IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством 5 мкг/мл липополисахарида. Затем 5×10^6 В-клеток внутритуморально в мышинной модели СТ26 и измеряли противоопухолевые ответы в дистальной (абскопальной) опухоли. Опухоли имплантировали в 0 день, а на 6 день наблюдали пальпируемую опухолевую массу. Лечение начинали на 6 день внутритуморально. Результаты показаны на фиг. 12.

Пример 7. Экспрессия химерного антигенного рецептора (CAR) в В-клетках с использованием электропорации РНК для получения CAR В-клеток

[197] PBMC или спленоциты мышей выделяли из крови или селезенки следующим образом. PBMC мышей выделяли с использованием лимфолит-М (CedarLane, кат. № CL5030), а спленоциты выделяли путем ручного разделения клеток посредством пропускания через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли соответственно из PBMC или спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep® (Stem Cell Technologies, кат. № 19854).

[198] Затем В-клетки стимулировали в течение 16-24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышинового IL-4 и 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством 5-15 мкг/мл липополисахарида. Затем В-клетки трансдуцировали или трансфицировали с использованием известных методик (вирусная трансфекция или электропорация) для достижения либо стабильной, либо временной экспрессии CAR-В. Strep II-метка была включена для посттрансляционного обнаружения. Иллюстративные CAR-В представляют собой следующие:

1. XENP PSMA CBCCR (3X strep II-метка)
2. HyHEL10 CBCCR (3X strep II-метка)
3. D1.3-M3 HEL CBCCR (3X strep II-метка)

[199] Для трансфекции очищенные или культивированные В-клетки промывали и

суспендировали в среде Cytoporation Medium T (BTX, кат. № 47-0002) в концентрации от 5×10^6 до 25×10^6 клеток на мл и смешивали с 7,5-50 мкг РНК (конструкции РНК были разработаны и приготовлены самостоятельно или приобретены у TriLink с использованием CleanCap® и полностью замещены псевдо-U). Получали 200 мкл суспензии клеток/РНК и подвергали электропорации с использованием системы для электропорации BTX Agilpulse®. Затем клетки промывали в PBS и готовили для в/в инъекции иммунокомпетентным мышам с подтвержденными опухолевыми клетками HerG2, которые экспрессируют соответствующий антиген (например, GPC3, HEL, PSMA). Трансляцию и экспрессию представляющего интерес белка затем измеряли с использованием антитела к Strep II-метке. Результаты показаны на фиг. 13. На фиг. 13 по оси X показана сила сигнала экспрессии, измеренная с помощью проточной цитометрии, а по оси Y отложен процент клеток, экспрессирующих желаемый представляющий интерес белок (PSMA, HEL).

[200] Этот эксперимент демонстрирует, что желаемая последовательность(и) РНК успешно трансфицируется или трансдуцируется (соответственно), РНК успешно транслируется, и желаемый представляющий интерес белок экспрессируется на клеточной поверхности.

Пример 8. Модифицированные В-клетки, экспрессирующие интегрины и хоминг-рецепторы

[201] Конструкции нуклеиновой кислоты, экспрессирующие интегрин, хоминг-рецептор или и то, и другое, конструируют с использованием известных способов. В-клетки мыши и человека трансфицируют или трансдуцируют (соответственно) конструкциями нуклеиновой кислоты для экспрессии интегрина, хоминг-рецептора или и того, и другого. Эти модифицированные клетки внутривенно вводят мышам- или человеку-хозяину. Покадровая визуализация будет измерять накопление модифицированных В-клеток в представляющем интерес сайте/мишени, например, в ткани для хоминга или ткани-мишени, в очаге воспаления в определенном месте или ткани, или в опухоли или микроокружении опухоли, чтобы подтвердить, что экспрессия интегрина и/или хоминг-рецептора с определенной специфичностью хоминга наделяет В-клетки способностью осуществлять хоминг и накапливаться в представляющем интерес сайте/мишени, где желательна доставка терапевтических полезных нагрузок. Проводят скрининговое исследование в соответствии с методиками из примера 5 для изучения доставки и воздействия полезных нагрузок в представляющем интерес сайте/мишени.

Пример 9. Изменение перемещения В-клеток

[202] Выделенные В-клетки культивируют с определенной концентрацией полностью транс-ретиноевой кислоты (ПТРК) или ее производных, которые индуцируют экспрессию интегрина $\alpha 4\beta 7$ и хоминг-рецептора CCR9. После этого В-клетки собирают и вводят мышам внутривенно. Имеются две экспериментальные группы мышей-реципиентов. Первой группе мышей предварительно вводят DSS или TNBS, чтобы вызвать воспаление кишечника. Второй группе мышей не вводят DSS или TNBS.

Предварительное введение DSS или TNBS вызывает воспаление, подобное наблюдаемому при кишечных заболеваниях человека. Введенные В-клетки, обработанные ПТРК или ее производным, будут осуществлять хоминг в области воспаления, соответствующие их потенциалу хоминга, из-за повышенной экспрессии интегрина $\alpha 4\beta 7$ и хоминг-рецептора CCR9.

Пример 10. Модифицированные В-клетки, экспрессирующие иммуноингибирующие молекулы.

[203] Конструкции нуклеиновых кислот, экспрессирующие иммуноингибирующую молекулу, выбранную из IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или любых их комбинаций, конструируют с помощью известных методик. В-клетки мыши и человека трансфицируют или трансдуцируют (соответственно) конструкциями нуклеиновой кислоты для экспрессии одной или более иммуноингибирующих молекул, перечисленных выше. Эти модифицированные клетки внутривенно вводят мыши- или человеку-хозяину вблизи или около очагов воспаления. Покадровая визуализация будет измерять накопление модифицированных В-клеток в представляющем интерес сайте/мишени, например, в ткани для хоминга или ткани-мишени, в очаге воспаления в определенном месте или ткани, или в опухоли или микроокружении опухоли, чтобы подтвердить, что воспаление в сайте и аутоиммунная активность В-клеток, локализованных в этом сайте, снижены, что приводит к положительному терапевтическому ответу.

Пример 11. Активация В-клеток с помощью TLR

[204] В-клетки обрабатывают агонистами TLR и/или модифицируют для экспрессии конститутивно активного TLR для применения при повышении активности В-клеток для иммунных ответов и обеспечения высокоактивных эффекторных В-клеток для повышения антигенспецифических иммунных ответов у субъекта. Выделенные В-клетки мыши или человека обрабатывают *in vitro* агонистом TLR одновременно или до введения В-клеток. В некоторых случаях В-клетки мыши или человека обрабатывают более чем одним агонистом TLR.

[205] Модифицированную В-клетку, трансфицированную или трансдуцированную конструкцией CAR-V из предыдущих примеров или без нее, конструируют для экспрессии одного или более конститутивно активных TLR. Каждый TLR вводят в модифицированную В-клетку (трансдуцированную или трансфицированную с использованием известных методов) в виде конструкции ДНК под контролем конститутивно активированного пути транскрипции. Модифицированную В-клетку, экспрессирующую один или более конститутивно активных TLR (с конструкцией CAR-V или без нее), также обрабатывают одним или более агонистами TLR одновременно или до введения модифицированных В-клеток нуждающемуся в этом субъекту или пациенту. Покадровая визуализация и другие известные методы будут измерять накопление модифицированных В-клеток в желаемом месте и подтверждать экспрессию TLR и любого экспрессированного CAR-V определенной специфичности.

[206] Этот эксперимент продемонстрирует, что желаемые последовательности

ДНК, кодирующие определенные представляющие интерес TLR, успешно трансфицируются или трансдуцируются (соответственно) в В-клетки с конструкцией CAR-V или без нее и обрабатываются агонистами TLR или без них, РНК успешно транслируется, желаемые TLR экспрессируются в В-клетках для обеспечения высокоактивных эффекторных В-клеток, повышая активность В-клеток в части иммунных ответов.

Пример 12. Презентация антигенов в молекулах HLA класса I и класса II с использованием В-клеток, электропорированных РНК

[207] **Конструкции мРНК.** Конструируют иллюстративные конструкции мРНК путем слияния определенного антигена, например, опухолевого антигена или антигена инфекционного заболевания, с нацеливающим сигналом лизосомального белка LAMP1 для нацеливания определенного антигена на лизосомы и презентации этого антигена одновременно и эффективно в молекулах HLA как класса I, так и класса II. Опухолевые антигены и антигены инфекционных заболеваний хорошо известны в данной области техники и могут включать любой представляющий интерес антиген, против которого желателен иммунный ответ. Получают различные конструкции мРНК, кодирующие по меньшей мере один определенный представляющий интерес антиген, слитый с нацеливающим сигналом LAMP1, который способен одновременно и эффективно презентировать определенный антиген молекулами HLA как класса I, так и класса II при трансфекции в подходящую иммунную клетку.

[208] **План эксперимента.** Выделенные В-клетки мыши или человека подвергают электропорации *in vitro* конструкцией мРНК, описанной выше (т. е. кодирующей определенный представляющий интерес антиген, слитый с нацеливающим сигналом LAMP1) с использованием известных методик электропорации мРНК. В некоторых случаях В-клетки мыши или человека также трансдуцируют или трансфицируют с использованием известных методик конструкцией CAR-V в соответствии с любым из приведенных выше примеров. В-клетки, электропорированные мРНК, трансдуцированные представляющей интерес конструкцией CAR-V или без нее, внутривенно вводят мышам или человеку-хозяину. Покадровая визуализация будет измерять накопление модифицированных В-клеток в желаемом месте, а также подтверждать экспрессию CAR-V определенной специфичности. Трансляцию и экспрессию определенных представляющих интерес опухолевых антигенов или антигенов инфекционных заболеваний измеряют с использованием известных способов, чтобы установить, что представляющие интерес антигены нацелены на лизосомы и презентуются одновременно и эффективно молекулами HLA как класса I, так и класса II.

[209] Этот эксперимент продемонстрирует, что желаемая последовательность(и) мРНК, кодирующая определенные представляющие интерес антигены, слитые с нацеливающим сигналом, успешно трансфицируется в В-клетки (которые, при желании, также трансдуцируются конструкцией CAR-V), мРНК успешно транслируется, и электропорированные и модифицированные В-клетки одновременно и эффективно

презентируют определенный представляющий интерес антиген молекулами HLA как класса I, так и класса II для повышения антигенспецифических иммунных ответов у субъекта.

Пример 13. В-клетки, экспрессирующие PSMA-специфичный CAR, снижают рост опухоли в опухолях CT26-PSMA

[210] **Мышиная модель опухоли.** Модель опухоли BALB/c CT26-PSMA, сконструированную для экспрессии PSMA человека, использовали для оценки эффективности мышиных В-клеток, сконструированных с использованием PSMA-специфичного CAR, в отношении объема опухоли и выживаемости. Восьминедельным мышам BALB/c инъецировали в один задний бок $1,0 \times 10^6$ опухолевых клеток CT26-PSMA в объеме 50 мкл. На 5 день, когда объем опухоли достиг приблизительно 60 мм^3 , мышей разделили поровну на 3 группы по 10 мышей. Лечение мышей начинали на 6 день с использованием мышиных В-клеток, сконструированных с мРНК, кодирующей два разных PSMA-специфичных формата CAR или немодифицированных В-клеток, которые вводили внутривенно в дозе $1,5 \times 10^6$ клеток в 100 мкл, или физиологического раствора на 6 день. Объем опухоли измеряли штангенциркулем на 5, 9, 11 и 13 день. В группе PSMA-CAR (формат 79a) наблюдалось статистически значимое уменьшение опухоли на 57% по сравнению с физиологическим раствором на 13 день. Не наблюдалось значительного уменьшения объема опухоли на 13 день в группе, получавшей PSMA-CAR (формат 79b), по сравнению с физиологическим раствором (ФИГ. 14).

[211] **Конструирование В-клеток мышей.** Спленоциты мышей выделяли из донорских селезенок BALB/c путем ручного разделения клеток через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли из спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep (Stem Cell Technologies, кат. № 19854). В-клетки стимулировали в течение 24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 25 мМ HEPES, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышиного IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством анти-CD40 (250 нг/мл). Затем клетки подвергали электропорации 20 мкг конструкции мРНК CAR на $3,6 \times 10^6$ В-клеток с использованием системы для электропорации BTX AgilePulse, настроенной на 280 В в течение 1 мс. Клетки промывали и ресуспендировали в PBS в концентрации 15×10^6 В-клеток/мл. Использовали 100 мкл клеточной суспензии на дозу.

PSMA-конструкция CD79a: pmPHK_d7_13_анти hPSMA(XENP14484) scFv-mCD8H-mCD28M-mCD79aE #ab-1

PSMA-конструкция CD79b: pmPHK_d7_13_анти hPSMA(XENP14484) scFv-mCD8H-mCD28M-mCD79bE #ac-1

Пример 14. Аллогенные В-клетки, экспрессирующие PSMA-специфичный CAR, снижают рост опухоли в опухолях CT26-PSMA

[212] **Мышиная модель опухоли.** Модель опухоли BALB/c CT26-PSMA, сконструированную для экспрессии PSMA человека, использовали для оценки эффективности аллогенных мышиных В-клеток, сконструированных с использованием

PSMA-специфичного CAR, в отношении объема опухоли и выживаемости. Восьминедельным мышам BALB/c инъецировали в один задний бок $1,0 \times 10^6$ опухолевых клеток CT26-PSMA в объеме 50 мкл. На 5 день, когда объем опухоли достиг приблизительно 70 мм^3 , мышей разделили поровну на 3 группы по 10 мышей. Лечение мышей начинали на 6 день с использованием аутологичных мышинных В-клеток, сконструированных с мРНК, кодирующей PSMA-специфичный CAR, и мРНК, кодирующей CCR7, или аллогенных мышинных В-клеток, сконструированных с мРНК, кодирующей PSMA-специфичный CAR, которые вводили внутривенно в дозе $1,5 \times 10^6$ клеток в 100 мкл, или физиологического раствора. Объем опухоли измеряли штангенциркулем на 5, 8 и 10 день. Наблюдалось статистически значимое уменьшение опухоли на 51% в группах аллогенных и аутологичных сконструированных В-клеток по сравнению с физиологическим раствором на 10 день (ФИГ. 15). ($p < 0,005$).

[213] **Конструирование В-клеток мышей.** Спленоциты мышей выделяли из донорских селезенки аутологичных BALB/c и аллогенных C57Bl/6 путем ручного деления клеток через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли из спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep (Stem Cell Technologies, кат. № 19854). В-клетки стимулировали в течение 24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 25 мМ HEPES, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышинного IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством анти-CD40 (250 нг/мл). Затем клетки подвергали электропорации 20 мкг конструкции мРНК CAR на $3,6 \times 10^6$ В-клеток с использованием системы для электропорации BTX AgilePulse, настроенной на 280 В в течение 1 мс. Клетки промывали и ресуспендировали в PBS в концентрации 15×10^6 В-клеток/мл. Использовали 100 мкл клеточной суспензии на дозу.

Пример 15. Противоопухолевая активность PSMA-CAR-модифицированных В-клеток зависит от интактной иммунной системы хозяина

[214] **Мышиные модели опухоли.** Действие противоопухолевых PSMA-CAR В-клеток изучали на мышях дикого типа (WT) и иммунодефицитных мышях NSG.

[215] **Мыши WT.** Модель опухоли BALB/c CT26-PSMA, сконструированную для экспрессии PSMA человека, использовали для оценки эффективности мышинных В-клеток, сконструированных с использованием PSMA-специфичного CAR, в отношении объема опухоли и выживаемости у мышей WT. Восьминедельным мышам BALB/c инъецировали в один задний бок $1,0 \times 10^6$ опухолевых клеток CT26-PSMA в объеме 50 мкл. На 5 день, когда объем опухоли достиг приблизительно 60 мм^3 , мышей разделили поровну на 4 группы по 10 мышей. Лечение мышей начинали на 6 день с использованием мышинных В-клеток, сконструированных с мРНК, кодирующей два разных PSMA-специфичных формата CAR или немодифицированных В-клеток, которые вводили внутривенно в дозе $1,5 \times 10^6$ клеток в 100 мкл, или физиологического раствора на 6 день. Объем опухоли измеряли штангенциркулем на 5, 9, 11 и 13 день. В группе PSMA-CAR (формат 79a) наблюдалось статистически значимое уменьшение опухоли на 57% по сравнению с

физиологическим раствором на 13 день. Не наблюдалось значительного уменьшения объема опухоли на 13 день в группе, получавшей PSMA-CAR (формат 79b) или немодифицированные В-клетки, по сравнению с физиологическим раствором (ФИГ. 14).

[216] **Мыши NSG.** Модель опухоли BALB/c CT26-PSMA, сконструированную для экспрессии PSMA человека, использовали для оценки эффективности мышиных В-клеток, сконструированных с использованием PSMA-специфичного CAR, в отношении объема опухоли и выживаемости у иммунодефицитных мышей. Восеминедельным мышам NSG инъецировали в один задний бок $1,0 \times 10^6$ опухолевых клеток CT26-PSMA в объеме 50 мкл. На 5 день, когда объем опухоли достиг приблизительно 60 мм^3 , мышей разделили поровну на 2 группы по 10 мышей. Лечение мышей начинали на 6 день с использованием мышиных В-клеток, сконструированных с мПНК, кодирующей PSMA-специфичный формат CAR, которые вводили внутривенно в дозе $1,5 \times 10^6$ клеток в 100 мкл, или физиологического раствора на 6 день. Объем опухоли измеряли штангенциркулем на 5, 8, 10 и 13 день. В группе PSMA-CAR (формат 79a) не наблюдалось значимого уменьшения объема опухоли по сравнению с физиологическим раствором на 13 день (ФИГ. 16B).

[217] **Конструирование В-клеток мышей.** Спленоциты мышей выделяли из донорских селезенки аутологичных BALB/c и аллогенных C57Bl/6 путем ручного разделения клеток через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли из спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep (Stem Cell Technologies, кат. № 19854). В-клетки стимулировали в течение 24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 25 mM HEPES, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышиного IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством анти-CD40 (250 нг/мл). Затем клетки подвергали электропорации 20 мкг конструкции мПНК CAR на $3,6 \times 10^6$ В-клеток с использованием системы для электропорации BTX AgilePulse, настроенной на 280 В в течение 1 мс. Клетки промывали и ресуспендировали в PBS в концентрации 15×10^6 В-клеток/мл. Использовали 100 мкл клеточной суспензии на дозу.

PSMA-конструкция CD79a: pmПНК_d7_13_анти hPSMA(XENP14484) scFv-mCD8H-mCD28M-mCD79aE #ab-1

PSMA-конструкция CD79b: pmПНК_d7_13_анти hPSMA(XENP14484) scFv-mCD8H-mCD28M-mCD79bE #ac-1

Пример 16. В-клетки, экспрессирующие GPC3-специфичный CAR, снижают рост опухоли в опухолях HEPA 1-6 GPC3

[218] **Мышиная модель опухоли.** Модель опухоли C57Bl/6 HEPA 1-6, сконструированную для экспрессии GPC3 (HEPA 1-6-GPC3) человека, использовали для оценки эффективности аллогенных мышиных В-клеток в отношении объема опухоли и выживаемости. Восеминедельным мышам C57Bl/6 инъецировали в один задний бок $5,0 \times 10^6$ опухолевых клеток HEPA 1-6-GPC3 в объеме 200 мкл. На 19 день, когда объемы опухолей достигли приблизительно 250 мм^3 , мышей разделили поровну на 3 группы по 10 мышей. Лечение мышей начинали на 20 день с использованием мышиных В-клеток,

сконструированных с мРНК, кодирующей GPC3-специфичный CAR или PSMA-специфичный CAR, которые вводили внутривенно в дозе $1,5 \times 10^6$ клеток в 100 мкл, или физиологического раствора на 20 день и 27 день. Объем опухоли измеряли штангенциркулем на 19, 23, 26 и 30 день. В группе GPC3-CAR наблюдалось статистически значимое уменьшение опухоли на 68% по сравнению с физиологическим раствором на 30 день. Не наблюдалось значительного уменьшения объема опухоли на 30 день в группе, получавшей PSMA-CAR, по сравнению с физиологическим раствором. (примечание: данное исследование все еще продолжается на 01.19.2021) (ФИГ. 17).

[219] **Конструирование В-клеток мышей.** Спленоциты мышей выделяли из донорских селезенок C57Bl/6 путем ручного разделения клеток через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли из спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep (Stem Cell Technologies, кат. № 19854). В-клетки стимулировали в течение 24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 25 мМ HEPES, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышинового IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанол) посредством анти-CD40 (250 нг/мл). Затем клетки подвергали электропорации 20 мкг конструкции мРНК CAR на $3,6 \times 10^6$ В-клеток с использованием системы для электропорации BTX AgilePulse, настроенной на 280 В в течение 1 мс. Клетки промывали и ресуспендировали в PBS в концентрации 15×10^6 В-клеток/мл. Использовали 100 мкл клеточной суспензии на дозу.

Конструкция мРНК GPC3: pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-mCD8H-mCD28M-mCD79aE #15-1

Конструкция PSMA: pmPHK_d7_13_анти hPSMA(XENP14484) scFv-mCD8H-mCD28M-mCD79aE #ab-1

Пример 17. Мультимеризованный GPC3 может активировать экспрессию люциферазы NFκB в клетках, экспрессирующих CAR к GPC3, дозозависимым образом

[220] *Дизайн конструкций CAR-V* Пять конструкций CAR-V были сконструированы с использованием трех основных форматов (i) CAR 2 (scFv, шарнирный домен, трансмембранный домен и сигнальный домен (см. ФИГ. XA)); (ii) CAR 3 (мультимеризованный рецепторный комплекс, содержащий по 2 из каждого из следующих: scFv, шарнирный домен, домен FC, трансмембранный домен и цитоплазматический хвост (см. ФИГ. XB)); (iii) CAR 4 (мультимеризованный рецепторный комплекс, содержащий по 2 из каждого из следующих: (домен FAB, шарнирный домен, домен FC, трансмембранный домен и цитоплазматический хвост (см. ФИГ. XC)). Указанные пять конструкций CAR-V представляют собой следующие:

ТАБЛИЦА 12

pWF-506 (SEQ ID NO: 140/141)	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-hIgG1 Fc [TM+цито] A-1 (CAR 3)
pWF-507 (SEQ ID NO: 142/143) / pWF-508	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 vL-hcЛямбда / pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 vH-hlgHgl [TM+ цито] (CAR 4)

(SEQ ID NO: 144/145)	
pWF-509 (SEQ ID NO: 146/147)	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79bE (CAR 2)
pWF-510 (SEQ ID NO: 148/149)	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79aE (CAR 2)

[221] *Репортерный анализ NFκB: Индуцированная антигеном передача сигналов*
Репортерные клетки Ramos с NFκB-люциферазой трансдуцировали мРНК, кодирующей одну из конструкций CAR-B, перечисленных выше. Репортерные клетки Ramos с NFκB-люциферазой трансфицировали при 280 В и 1 мс посредством 10 мкг РНК в 200 мкл буфера для электропорации, после чего культивировали в ростовой среде в течение ночи. Клетки оставляли при комнатной температуре на 4 часа для стабилизации клеток и уменьшения фона. В каждую лунку многолуночного планшета переносили по 30 000 трансфицированных клеток в объеме 30 мкл на лунку. Затем трансфицированные клетки Ramos инкубировали с белком GPC3, мультимеризованным со стрептавидином, контрольным стрептавидином или белком GPC3-Fc, в течение 3 часов в ростовой среде. В каждую лунку добавляли по 30 мкл субстрата Bioglo (Promega) и планшеты считывали в течение 5 минут с помощью люминометра. Как показано на ФИГ. 18, мультимеризованный GPC3 был способен активировать экспрессию люциферазы NFκB в клетках, экспрессирующих три из четырех CAR-B к GPC3, за исключением pWF-509 (GPC3-CD79b). Все четыре конструкции продемонстрировали хорошее связывание с GPC3 в анализах FACS. Таким образом, CD79b был примером, в котором CAR, обладающий хорошей аффинностью связывания, не передал сигнал.

[222] *Репортерный анализ NFκB: Тоническая передача сигналов.* Также оценивали тоническую передачу сигналов с использованием репортерного анализа NFκB. Были созданы конструкции CAR, которые индуцировали повышенную тоническую передачу сигналов в отсутствие связывания когнатного антигена. На ФИГ. 19 показано, что четыре конструкции CAR-B экспрессировались в репортерной линии В-клеток человека, а активность люциферазы NFκB измеряли в отсутствие когнатного антигена-мишени. Каждая конструкция демонстрировала значительную активность тонической передачи сигналов. Сконструированные В-клетки с тоническими сигнальными CAR В оставались в большом количестве *in vivo* и приводили к высокой и устойчивой экспрессии заместительных факторов или других полезных нагрузок.

Пример 18. Полезная нагрузка CD80 усиливает противоопухолевую активность В-клеток к GPC3CAR-CD79a.

[223] *План эксперимента.* Сингенная опухоль HEPA1-6GPC3 мыши C57Bl/6 представляет собой модель НСС человека, сконструированную для экспрессии GPC3 человека. Эту модель использовали для оценки эффективности В-клеток мыши, подвергнутых электропорации мРНК с полезной нагрузкой анти-GPC3CAR-CD79a и CD80. Мышам инъецировали в один задний бок $5,0 \times 10^6$ опухолевых клеток HEPA1-

6GPC3 в объеме 200 мкл в matrigel. На 11, 14 и 17 день мышам в/в вводили дозу 200 мкл $1,5 \times 10^6$ В-клеток, В-клеток, модифицированных с помощью анти-GPC3CAR-CD79a, В-клеток, модифицированных с помощью анти-GPC3CAR-CD79a и CD80, или физиологический раствор, как указано на ФИГ. 20. В-клетки модифицировали с помощью мРНК, как описано ниже. Объем опухоли отслеживали в течение нескольких дней, как показано на ФИГ. 20.

[224] На ФИГ. 20 как анти-GPC3CAR-CD79a, так и комбинация анти-GPC3CAR-CD79a плюс CD80 демонстрировали статистически значимый эффект по сравнению с физиологическим раствором или немодифицированными В-клетками на 44 день и в нескольких более ранних временных точках. Кроме того, к 44 дню не было полных ответов в контрольных группах с физиологическим раствором или контрольными В-клетками, но анти-GPC3CAR-CD79a и комбинация анти-GPC3CAR-CD79a плюс CD80 приводили к 4 и 7 полным ответам соответственно, как показано на ФИГ. 21А-21С. Эти данные демонстрируют, что включение полезной нагрузки CD80 в качестве мРНК усиливало противоопухолевую активность В-клеток, ко-электропорированных антигенспецифичным CAR к GPC3.

[225] *Получение В-клеток.* Спленоциты мышей выделяли из донорских селезенок C57Bl/6 путем ручного разделения клеток через нейлоновое сито для клеток на 70 мкм. Затем В-клетки выделяли из спленоцитов с помощью иммуномагнитной отрицательной селекции с использованием набора для выделения В-клеток мыши EasySep (Stem Cell Technologies, кат. № 19854). В-клетки стимулировали в течение 24 часов в ростовой среде (RPMI, 10% FBS, 1% пенициллин/стрептомицин, 5 нг/мл рекомбинантного мышинового IL-4, 100 мкМ бета-меркаптоэтанола) посредством 250 нг/мл антитела к CD40 (антимышиного антитела к CD40). Затем клетки подвергали электропорации 20 мкг мРНК на $1,0 \times 10^7$ В-клеток с использованием системы для электропорации BTX AgilePulse, настроенной на 400 В в течение 1 мс с интервалом в 2 мс на 5 импульсов. При совместной трансфекции двух мРНК использовали по 20 мкг каждой мРНК. Сразу после электропорации клетки промывали в PBS и готовили для в/в введения в дозе $1,0 \times 10^7$ на 200 мкл. Электропорированные клетки вводили мышам в течение 90 минут после электропорации.

[226] Через двенадцать часов после электропорации небольшую аликвоту клеток окрашивали на экспрессию анти-GPC3CAR-CD79a и экспрессию CD80. Для обнаружения экспрессии анти-GPC3CAR-CD79a использовали GPC3-Avitag и стрептавидин-BV421. Экспрессию CD80 измеряли с помощью антитела к CD80-PE для FACS. На графиках FACS на ФИГ. 22А-22С показана экспрессия CAR к GPC3 после электропорации. CD80 экспрессировался на базальном уровне в немодифицированных В-клетках, что объясняет ~ 10% положительных результатов. Этот уровень сохранялся в образце CAR, но резко увеличивался в образце CAR+CD80. Последнее указывало на эффективную экспрессию CD80.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать химерный рецептор (CAR-B), где указанный химерный рецептор содержит
внеклеточный домен, где внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен;
трансмембранный домен; и
цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен.
2. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный внеклеточный связывающий домен(ы) распознает по меньшей мере один антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени.
3. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где внеклеточный связывающий домен(ы) распознает по меньшей мере один антиген, который представляет собой секретируемый белок.
4. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 3, где секретируемый белок накапливается во внеклеточном матриксе.
5. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 2, где указанная клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи, эндотелиальной клетки, гепатоцита, легочной эпителиальной клетки и фибробласта.
6. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанная В-клетка экспрессирует более одной конструкции CAR-B-рецептора.
7. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный CAR-B-рецептор содержит более одного внеклеточного связывающего домена.
8. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), или полноразмерное антитело или фрагмент антитела, или внеклеточный домен рецептора или лиганда.
9. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GPC3, ASGR1, ASGR2, саркогликана, корина, FAP, MUC1, CEA153, JAM-1, LAF-1 и Her2.
10. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный шарнирный домен происходит из группы, состоящей из иммуноглобулина (например, IgG, IgM), CD28 и CD8.
11. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеточных рецепторов.
12. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, который

представляет собой иммуноглобулин.

13. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 1, где указанный цитоплазматический домен содержит домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK.

14. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 13, где указанный цитоплазматический домен содержит домен, представляющий собой CD79a.

15. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 13, где указанный цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен.

16. Выделенная модифицированная В-клетка, где указанная В-клетка способна экспрессировать и секретировать полезную нагрузку, где полезная нагрузка естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке.

17. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 16, где полезная нагрузка представляет собой антитело или его фрагмент.

18. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 17, где антитело представляет собой секретируемое антитело или его фрагмент.

19. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 17, где антитело является мембраносвязанным.

20. Модифицированная В-клетка по п. 16, где указанная полезная нагрузка выбрана из группы цитокинов, хемокинов, Т-клеточных костимулирующих молекул и молекул контрольных точек, где группа состоит из: IL-1, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, IL-21, интерферона α , интерферона β , интерферона γ , TSLP, CCL21, FLT3L, XCL1, LIGHT(TNFSF14), OX40L, CD137L, CD40L, ICOSL, антитела к CD3, CD47, TIM4-FC, CXCL13, CCL21, CD80, CD40L, IFN α A2, LIGHT, 4-1BBL, MDGF (C19orf10), FGF10, PDGF, агрина, TNF- α , GM-CSF, антитела к FAP, антитела к TGF- β ; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей TGF- β ; антитела к BMP; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей BMP.

21. Модифицированная В-клетка по п. 16, где указанная В-клетка способна экспрессировать более одной полезной нагрузки.

22. Модифицированная В-клетка по п. 16, где указанная В-клетка способна экспрессировать более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 полезных нагрузок.

23. Способ лечения пациента, включающий введение модифицированной В-клетки по п. 14.

24. Способ по п. 23, где модифицированную В-клетку вводят внутритуморально, внутривенно, подкожно, внутрикожно или в очаг воспаления.

25. Способ по п. 23, дополнительно включающий введение одного или более ингибиторов контрольных точек, с дополнительным химиотерапевтическим средством или без него.

26. Способ по п. 25, где ингибитор контрольной точки способен ингибировать

молекулу контрольной точки, выбранную из группы, состоящей из: PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG3, TIM-3 и NKG2A.

27. Способ по п. 23, дополнительно включающий введение Т-клеточной костимулирующей молекулы.

28. Способ по п. 27, где Т-клеточная костимулирующая молекула выбрана из группы, состоящей из: CD80, CD86, ICOSL, 4-1BBL, OX40L, CD27 и LIGHT.

29. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать химерный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит

внеклеточный домен, где внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен;

трансмембранный домен; и

цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен,

где указанная модифицированная В-клетка дополнительно способна экспрессировать полезную нагрузку, где полезная нагрузка естественным образом не экспрессируется в В-клетке.

30. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени.

31. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный внеклеточный связывающий домен распознает секретируемый антиген или белок.

32. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанная клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи, эндотелиальной клетки, гепатоцита, легочной эпителиальной клетки и фибробласта.

33. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанная В-клетка экспрессирует более одной конструкции CAR-В-рецептора.

34. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный CAR-В-рецептор содержит более одного внеклеточного связывающего домена.

35. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), полноразмерное антитело, фрагмент антитела или внеклеточный домен рецептора или лиганда.

36. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GP3, ASGR1, ASGR2, саркогликана, корина и Her2, FAP, MUC1, CEA153, JAM-1 и LFA-1.

37. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный шарнирный домен происходит из группы, состоящей из иммуноглобулина (например, IgG или IgM),

CD28 и CD8.

38. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеток.

39. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, который представляет собой иммуноглобулин.

40. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанный цитоплазматический домен содержит домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK.

41. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 40, где цитоплазматический домен содержит домен, представляющий собой CD79a (иммуноглобулин α).

42. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 41, где указанный цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен.

43. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где полезная нагрузка представляет собой секретируемое или мембраносвязанное антитело или его фрагмент.

44. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанная полезная нагрузка выбрана из группы цитокинов, хемокинов, Т-клеточных костимулирующих молекул и молекул контрольных точек, где группа состоит из: IL-1, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, IL-21, интерферона α , интерферона β , интерферона γ , TSLP, CCL21, FLT3L, XCL1, LIGHT(TNFSF14), OX40L, CD137L, CD40L, ICOSL, антитела к CD3, CD47, TIM4-FC, CXCL13, CCL21, CD80, CD40L, IFN α A2, LIGHT, 4-1BBL, MDGF (C19orf10), FGF10, PDGF, агрина, TNF- α , GM-CSF, антитела к FAP, антитела к TGF- β ; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей TGF- β ; антитела к BMP; ловушки, приманки или другой молекулы, ингибирующей BMP.

45. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанная В-клетка способна экспрессировать более одной полезной нагрузки.

46. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где указанная В-клетка способна экспрессировать более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 полезных нагрузок.

47. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 29, где модифицированная В-клетка дополнительно кодирует по меньшей мере один белок, выбранный из группы, состоящей из: цитоплазматических доменов CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, CD3 ζ и MyD88.

48. Способ лечения пациента, включающий введение модифицированной В-клетки по п. 29.

49. Способ по п. 48, дополнительно включающий введение ингибитора контрольной точки.

50. Способ по п. 48, где ингибитор контрольной точки способен ингибировать молекулу контрольной точки, выбранную из группы, состоящей из: PD-1, PD-L1, CTLA-4,

LAG3, TIM-3 и NKG2A.

51. Способ по п. 50, где ингибитор контрольной точки представляет собой моноклональное антитело.

52. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать химерный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит внеклеточный домен, где указанный внеклеточный домен содержит шарнирный домен и внеклеточный связывающий домен, где указанный внеклеточный связывающий домен естественным образом не экспрессируется на В-клетке; и где указанный внеклеточный связывающий домен способен распознавать представляющую интерес мишень.

53. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 52, где указанный связывающий домен представляет собой одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv), полноразмерное антитело, фрагмент антитела, внеклеточный домен лиганда или рецептора.

54. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 53, где указанный связывающий домен представляет собой scFv.

55. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 52, где указанная В-клетка способна экспрессировать более одного химерного рецептора.

56. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 52, где указанная В-клетка дополнительно способна экспрессировать полезную нагрузку.

57. Способ лечения пациента, включающий введение модифицированной В-клетки по п. 52.

58. Нуклеиновая кислота, способная экспрессировать химерный В-клеточный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит:

внеклеточный домен, где указанный внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен;
 трансмембранный домен; и
 цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен.

59. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени.

60. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, который представляет собой секретируемый белок.

61. Нуклеиновая кислота по п. 58, где секретируемый белок накапливается во внеклеточном матриксе.

62. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv), полноразмерное антитело, фрагмент антитела или внеклеточный домен рецептора или лиганда.

63. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанная клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной

мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи, эндотелиальной клетки, гепатоцита, легочной эпителиальной клетки или фибробласта.

64. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный вектор экспрессирует более одного CAR-B-рецептора.

65. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный CAR-B-рецептор экспрессирует более одного внеклеточного связывающего домена.

66. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GP3, ASGR1, AGSR2, саркогликана, корина, Her2, PAF1, MUC1, CEA153, JAM-1 и LFA-1.

67. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный шарнирный домен происходит из группы, состоящей из домена иммуноглобулина (например, IgG или IgM), CD28 и CD8.

68. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеточных рецепторов.

69. Нуклеиновая кислота по п. 58, где указанный цитоплазматический домен содержит домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK.

70. Нуклеиновая кислота по п. 69, где указанный цитоплазматический домен содержит домен, представляющий собой CD79a (иммуноглобулин α).

71. Нуклеиновая кислота по п. 69, где указанный цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен.

72. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать химерный В-клеточный рецептор, где указанный химерный рецептор содержит:

внеклеточный домен, где указанный внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен;

трансмембранный домен; и

цитоплазматический домен, который содержит по меньшей мере один сигнальный домен.

73. Вектор по п. 72, где указанный внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени.

74. Вектор по п. 72, где указанный внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, который представляет собой секретируемый белок.

75. Вектор по п. 72, где секретируемый белок накапливается во внеклеточном матриксе.

76. Вектор по п. 72, где указанная клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи, эндотелиальной клетки, гепатоцита, легочной эпителиальной клетки или фибробласта.

77. Вектор по п. 72, где указанный вектор экспрессирует более одного CAR-B-рецептора.

78. Вектор по п. 72, где указанный CAR-B экспрессирует более одного внеклеточного связывающего домена.

79. Вектор В-клетка по п. 72, где указанный внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), полноразмерное антитело, фрагмент антитела, внеклеточный домен рецептора или лиганда.

80. Вектор по п. 72, где указанный внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GPC3, ASGR1, AGSR2, саркогликана, корина, Her2, PAF1, MUC1, CEA153, JAM-1 и LFA-1.

81. Вектор по п. 72, где указанный шарнирный домен происходит из группы, состоящей из домена иммуноглобулина (например, IgG или IgM), CD28 и CD8.

82. Вектор по п. 72, где указанный цитоплазматический домен содержит по меньшей мере один сигнальный домен, нативный для В-клеток.

83. Вектор по п. 72, где указанный цитоплазматический домен содержит сигнальный домен, выбранный из группы, состоящей из: CD79a (иммуноглобулин α), CD79b (иммуноглобулин β), CD40, CD19, CD137, Fc γ 2a, MyD88, CD21, Syk, FYN, LYN, PI3K, BTK, PLC γ 2, CD3 ζ и BLNK.

84. Вектор по п. 72, где указанный цитоплазматический домен дополнительно содержит костимулирующий домен.

85. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать интегрин, хоминг-антитело, белок, рецептор или их комбинации, где указанный интегрин, хоминг-антитело, белок или рецептор естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке; и где указанный интегрин, хоминг-антитело, белок, рецептор или их комбинации привлечены к представляющему интерес сайту или мишени.

86. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 85, где интегрин, хоминг-антитело, белок и рецептор выбраны из CLA (гликоформа PSGL-1), CLA (гликоформа PSGL-1), CCR10, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR9, CD43E, CD44, c-Met, CXCR3, CXCR4, LFA-1, LFA-1 (α L β 2), лигандов селектина, VLA-4, VLA-4 (α 4 β 1) и α 4 β 7 или их комбинаций.

87. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 86, где представляющий интерес сайт представляет собой ткань для хоминга или ткань-мишень, очаг воспаления в определенном месте или ткани, или опухоль или микроокружение опухоли, куда желательна доставка полезных нагрузок.

88. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 87, где ткань для хоминга или ткань-мишень выбрана из кожи, кишечника (кишечного тракта, толстой кишки, брыжеечных лимфатических узлов (БЛУ), пейеровой бляшки (ПБ), тонкой кишки), печени, легкого, костного мозга, сердца, периферического лимфатического узла (ЛУ), ЦНС (центральная нервная система), вилочковой железы и костного мозга.

89. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 88, где представляющая интерес мишень выбрана из CXCL16, CCL17, CCL17(22), CCL20 (MIP-3 α), CCL21, CCL25, CCL27, CCL28, CCL4, CCL5, CD62E, CD62P, CXCL10, CXCL12, CXCL13, CXCL16, CXCL9/CXCL10, CXCR3, E/P-селектина, E-селектина, GPR15L, HGF, гиалуроната, ICAM-1, лигандов для CCR1, 2, 5, MAdCAM, MAdCAM-1, PNA α , VAP-1, VCAM и VCAM-1 или их комбинаций.

90. Способ лечения пациента, включающий введение выделенной модифицированной В-клетки по п. 82.

91. Способ по п. 90, дополнительно включающий введение соединения или его производного, где соединение или его производное способно модулировать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка и рецептора или их комбинаций.

92. Способ по п. 91, где соединение или его производное способно изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента.

93. Способ по п. 92, где соединение представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное.

94. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать иммуноингибирующую молекулу, где указанная иммуноингибирующая молекула естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке.

95. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 94, где указанная иммуноингибирующая молекула выбрана из IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или их комбинаций.

96. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 95, где указанная иммуноингибирующая молекула способна снижать воспаление и аутоиммунную активность В-клеток в представляющем интерес сайте или мишени у пациента.

97. Способ лечения пациента, включающий введение выделенной модифицированной В-клетки по п. 94.

98. Способ по п. 97, где указанная иммуноингибирующая молекула выбрана из IL-10, TGF- β , PD-L1, PD-L2, LAG-3 и TIM-3 или их комбинаций.

99. Способ по п. 98, где указанная иммуноингибирующая молекула способна снижать воспаление и аутоиммунную активность В-клеток в представляющем интерес сайте или мишени у пациента.

100. Способ по п. 99, дополнительно включающий введение соединения или его производного, способного повышать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций в В-клетке.

101. Способ по п. 100, где указанное соединение или его производное способно изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента.

102. Способ по п. 101, где указанное соединение представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное.

103. Выделенная модифицированная В-клетка, где выделенная модифицированная В-клетка обработана соединением или его производным, где указанное соединение или его производное способно повышать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций в В-клетках.

104. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 103, где указанное соединение или его производное способно изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента.

105. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 104, где указанное соединение представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное.

106. Способ лечения пациента, включающий введение выделенной модифицированной В-клетки по п. 100, где указанное соединение или его производное способно (i) модулировать экспрессию интегрина, хоминг-антитела, белка, рецептора или их комбинаций в В-клетках и (ii) изменять перемещение В-клеток к представляющему интерес сайту или мишени у пациента.

107. Способ по п. 106, где указанное соединение представляет собой полностью транс-ретиноевую кислоту (ПТРК) или ее производное.

108. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать по меньшей мере один или более конститутивно активных толл-подобных рецепторов (TLR), где указанный TLR естественным образом не экспрессируется в В-клетке или экспрессируется на более высоких уровнях по сравнению с естественной экспрессией в В-клетке.

109. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 108, где указанный TLR выбран из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций.

110. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 109, где указанный TLR способен повышать активность В-клеток для повышения иммунных ответов у пациента.

111. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 110, где указанный TLR способен обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента.

112. Способ лечения пациента, включающий введение выделенной модифицированной В-клетки по п. 108, где указанная иммуноингибирующая молекула способна снижать воспаление и аутоиммунную активность В-клеток в представляющем интерес сайте или мишени у пациента.

113. Способ по п. 112, где указанный TLR выбран из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций.

114. Способ по п. 113, где указанный TLR способен (i) повышать активность В-клеток и (ii) обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента.

115. Способ по п. 114, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного или более агонистов TLR.

116. Выделенная модифицированная В-клетка, где выделенная модифицированная В-клетка обработана по меньшей мере одним или более агонистами TLR.

117. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 116, где указанный агонист TLR способен (i) повышать активность В-клеток и (ii) обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента.

118. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 117, где указанный агонист TLR связывается с одним или более TLR, выбранными из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций.

119. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 118, где указанный агонист TLR выбран из CpG-богатых олигонуклеотидов, миметиков двухцепочечной РНК, полиинозиновой кислоты:полицитидиловой кислоты (поли-I:C).

120. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 119, где указанный агонист TLR включает CpG-олигонуклеотиды.

121. Способ лечения пациента, включающий введение выделенной модифицированной В-клетки по п. 116.

122. Способ по п. 121, где указанный агонист TLR способен (i) повышать активность В-клеток и (ii) обеспечивать высокоактивные эффекторные В-клетки для повышения иммунных ответов у пациента.

123. Способ по п. 122, где указанный агонист TLR связывается с одним или более TLR, выбранными из TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 и TLR13 или их комбинаций.

124. Способ по п. 123, где указанный агонист TLR выбран из CpG-богатых олигонуклеотидов, миметиков двухцепочечной РНК, полиинозиновой кислоты:полицитидиловой кислоты (поли-I:C).

125. Способ по п. 124, где указанный агонист TLR включает CpG-олигонуклеотиды.

126. Выделенная модифицированная В-клетка, где указанная В-клетка подвергнута электропорации мРНК, кодирующей по меньшей мере один или более антигенов, слитых с нацеливающим сигналом.

127. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 126, где указанный антиген (i) естественным образом не презентруется В-клеткой, (ii) естественным образом не презентруется В-клеткой одновременно в молекулах HLA как класса I, так и класса II или (iii) естественным образом не презентруется В-клеткой с высокой эффективностью в молекулах HLA как класса I, так и класса II.

128. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 127, где указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосомального белка.

129. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 128, где указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосома-ассоциированного мембранного белка-1 (LAMP1).

130. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 129, где указанный антиген

способен нацеливаться на лизосомы и одновременно и эффективно презентироваться в молекулах HLA как класса I, так и класса II.

131. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 130, где указанные В-клетки способны повышать антигенспецифические иммунные ответы у пациента.

132. Способ лечения пациента, включающий введение выделенной модифицированной В-клетки по п. 126.

133. Способ по п. 132, где указанный антиген (i) естественным образом не презентуется В-клеткой, (ii) естественным образом не презентуется В-клеткой одновременно молекулами HLA как класса I, так и класса II или (iii) естественным образом не презентуется В-клеткой с высокой эффективностью молекулами HLA как класса I, так и класса II.

134. Способ по п. 133, где указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосомального белка.

135. Способ по п. 134, где указанный нацеливающий сигнал представляет собой нацеливающий сигнал лизосома-ассоциированного мембранного белка-1 (LAMP1).

136. Способ по п. 135, где указанный антиген способен нацеливаться на лизосомы и одновременно и эффективно презентироваться в молекулах HLA как класса I, так и класса II.

137. Способ по п. 136, где указанные В-клетки способны повышать антигенспецифические иммунные ответы у пациента.

138. Способ по любому из пп. 132-137, где пациент получает лечение более чем одной модифицированной В-клеткой, где указанные В-клетки модифицированы различным образом.

139. Способ по любому из пп. 132-137, где пациент получает лечение более чем двумя модифицированными В-клетками, где указанные В-клетки модифицированы различным образом.

140. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать химерный рецептор (CAR-V), где указанный химерный рецептор содержит

внеклеточный домен, где внеклеточный домен содержит внеклеточный связывающий домен и шарнирный домен;

трансмембранный домен; и

цитоплазматический домен.

141. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 140, где внеклеточный домен содержит домен иммуноглобулина.

142. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 140, где химерный рецептор способен образовывать гомологичный димер.

143. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 140, где внеклеточный связывающий домен распознает антиген или белок, экспрессируемый на поверхности клетки-мишени.

144. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 143, где указанный

внеклеточный связывающий домен распознает секретируемый антиген или белок.

145. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 143, где указанная клетка-мишень выбрана из группы, состоящей из опухолевой клетки, клетки сердечной мышцы, клетки скелетной мышцы, клетки кости, клетки крови, нервной клетки, жировой клетки, клетки кожи, эндотелиальной клетки, гепатоцита, легочной эпителиальной клетки и фибробласта.

146. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 143, где указанный внеклеточный связывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), полноразмерное антитело, фрагмент антитела или внеклеточный домен рецептора или лиганда.

147. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 143, где указанный внеклеточный связывающий домен способен связываться с антигеном или белком, выбранным из группы, состоящей из: PSMA, GP3, ASGR1, ASGR2, саркогликана, корина и Her2, FAP, MUC1, CEA153, JAM-1 и LFA-1.

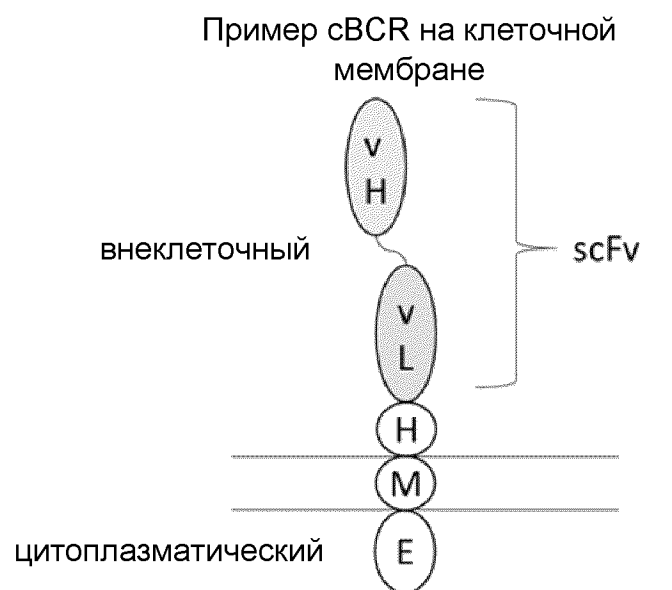
148. Выделенная модифицированная В-клетка по п. 14, где указанный шарнирный домен происходит из группы, состоящей из иммуноглобулина (например, IgG или IgM), CD28 и CD8.

149. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать химерный рецептор (CAR-B), где указанный химерный рецептор содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146.

150. Выделенная модифицированная В-клетка, способная экспрессировать химерный рецептор (CAR-B), где указанный химерный рецептор содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144 или обе.

По доверенности

1/18



vH: переменная область тяжелой цепи

vL: переменная область легкой цепи

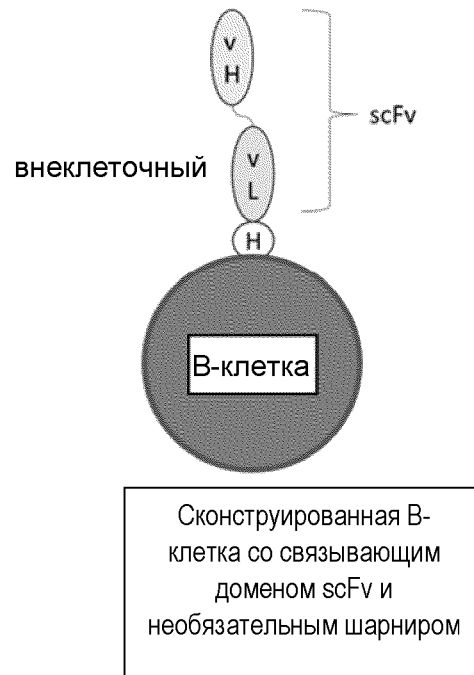
H: шарнирная область

M: трансмембранный домен

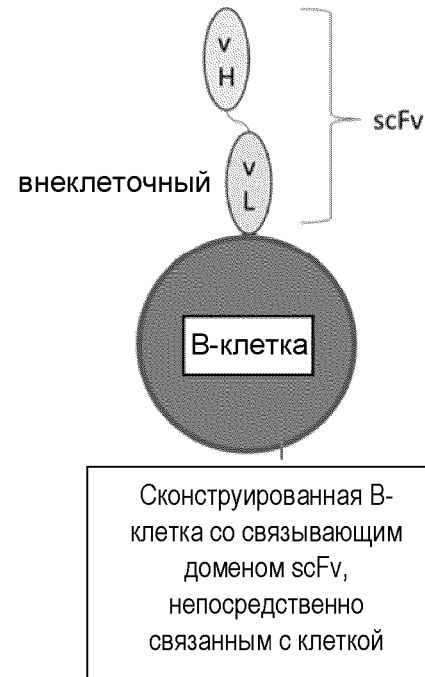
E: цитоплазматический сигнальный домен

ФИГ. 1

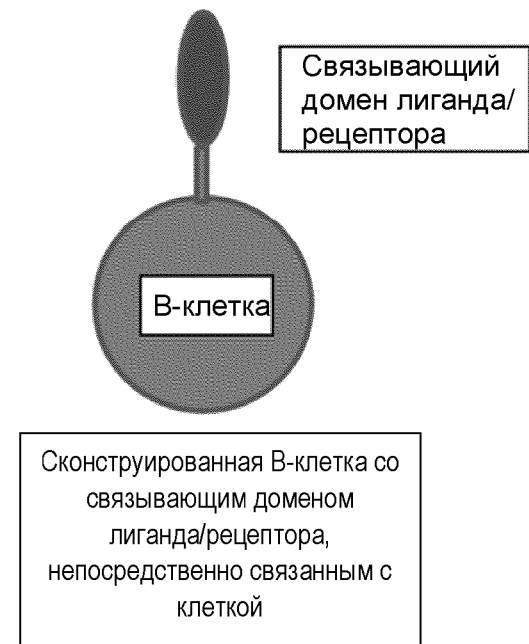
Сконструированные В-клетки с хоминг-доменом



ФИГ. 2А



ФИГ. 2В



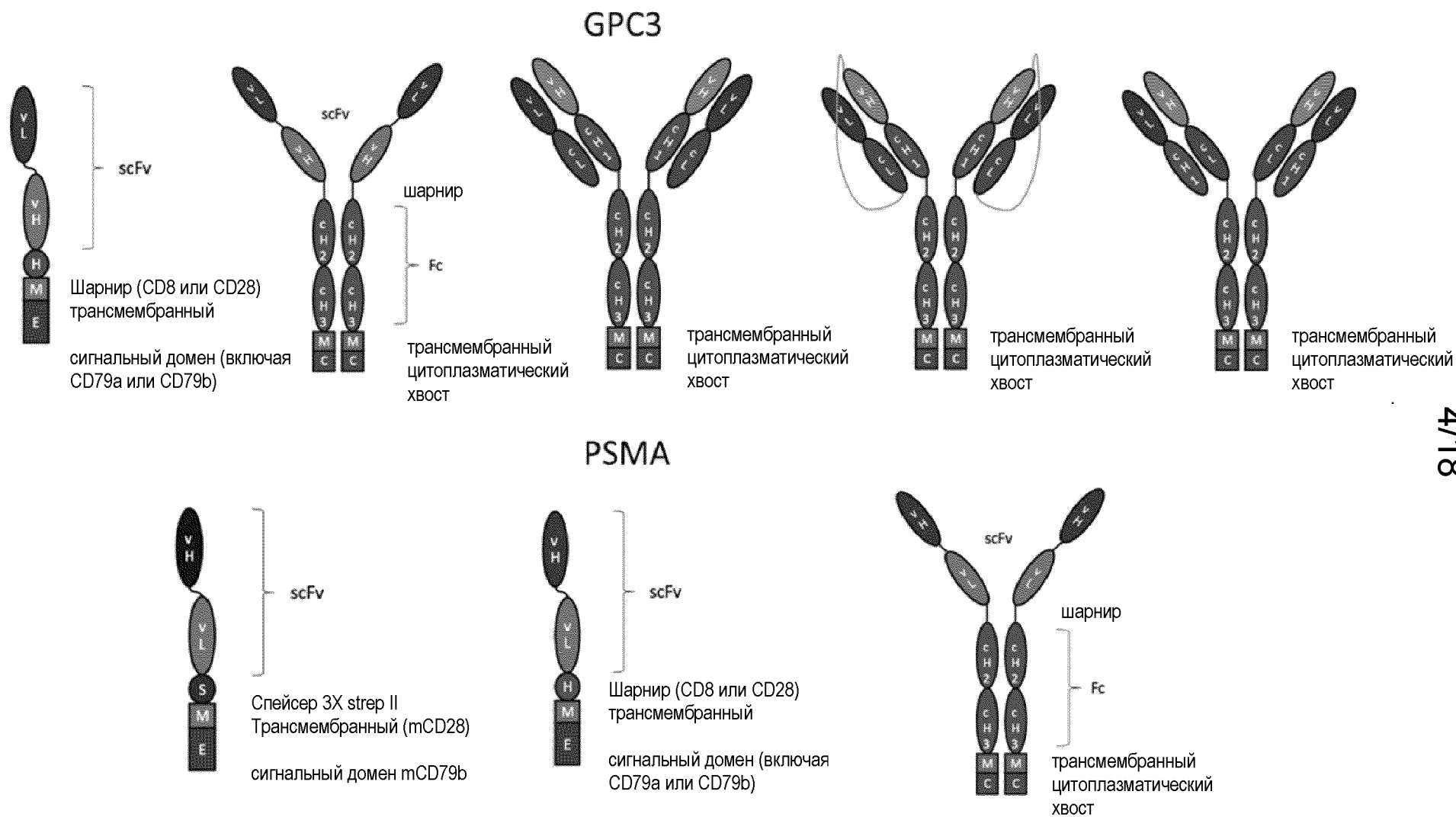
ФИГ. 2С

Примеры sBCR (химерного антигенного рецептора)

scFv к GPC3	Шарнир	Трансмембранный	Сигнальный домен
-------------	--------	-----------------	------------------

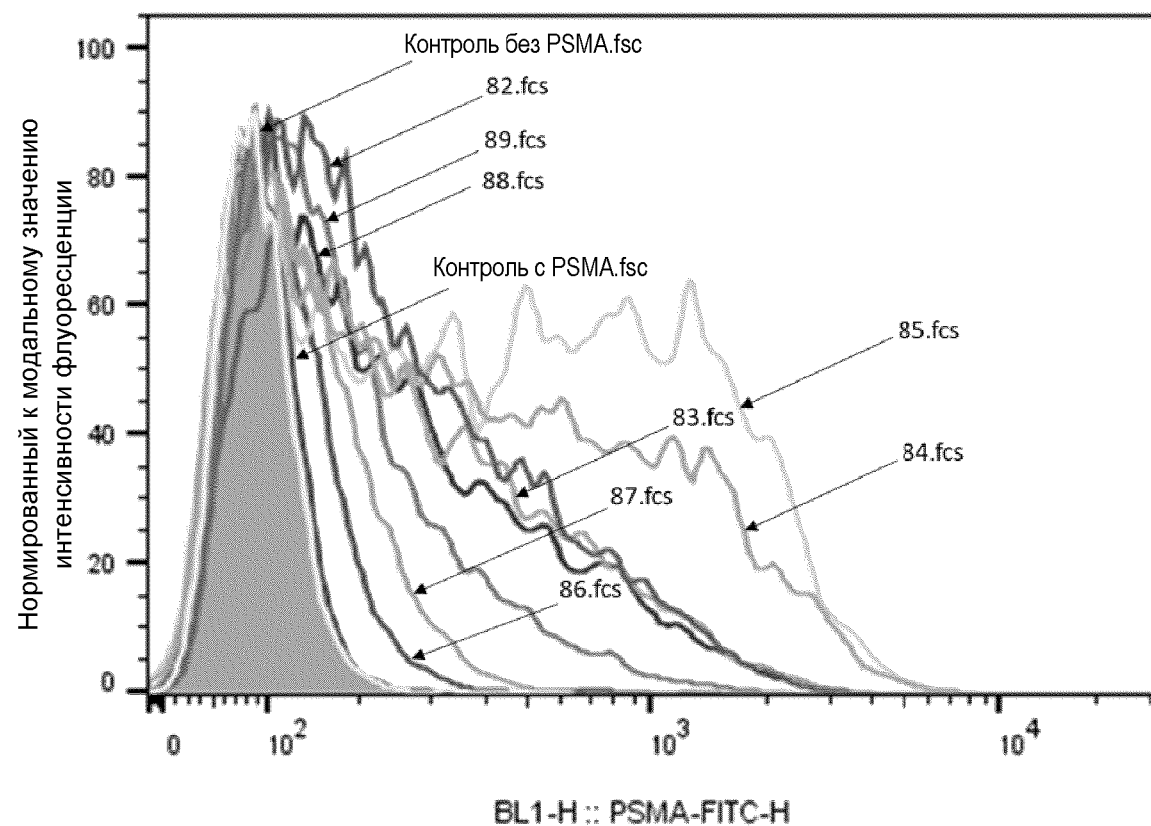
scFv к PSMA	Шарнир	Трансмембранный	Сигнальный домен
-------------	--------	-----------------	------------------

ФИГ. 3

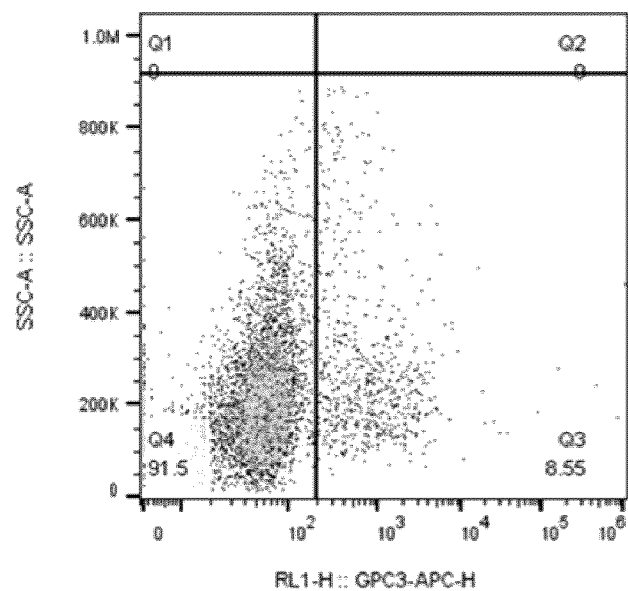


ФИГ. 4

Название образца	геометрич. среднее: BL1-H
Контроль без PSMA.fsc	97.5
Контроль с PSMA.fsc	102
82.fcs	248
83.fcs	243
84.fcs	347
85.fcs	422
86.fcs	119
87.fcs	136
88.fcs	251
89.fcs	175

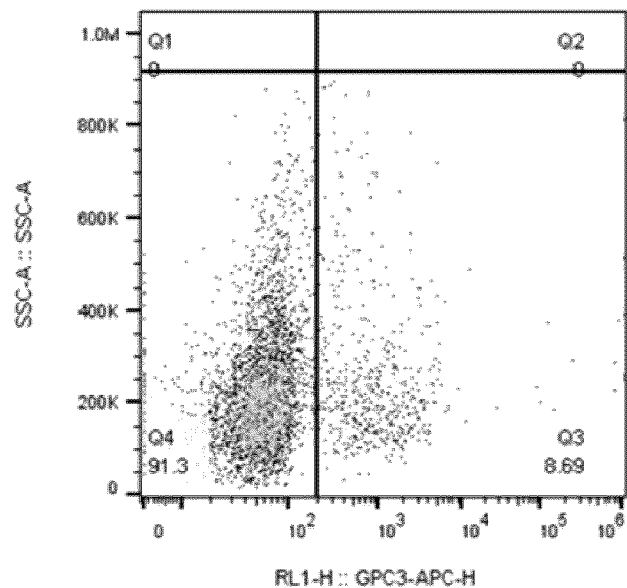


ФИГ. 5



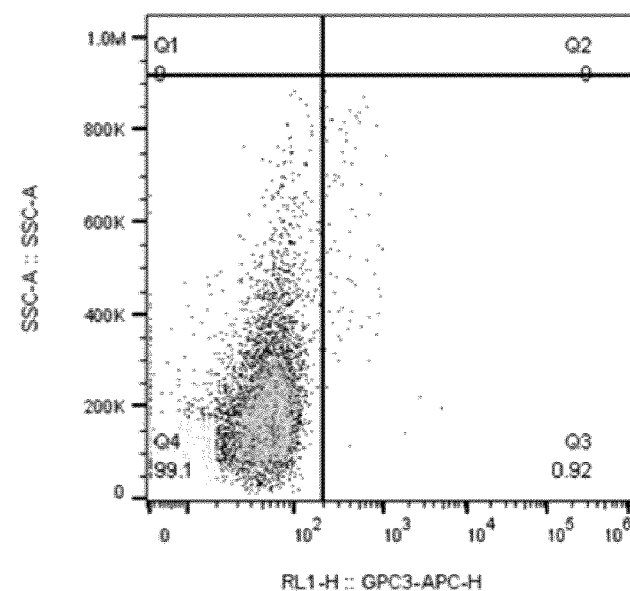
8-wft-396-gp3-hcd8-cd28tm-cd79a.fcs
 CD19-бриллиантовый фиолетовый
 421-Н, FSC-Н, субпопуляция 8469

ФИГ. 6А



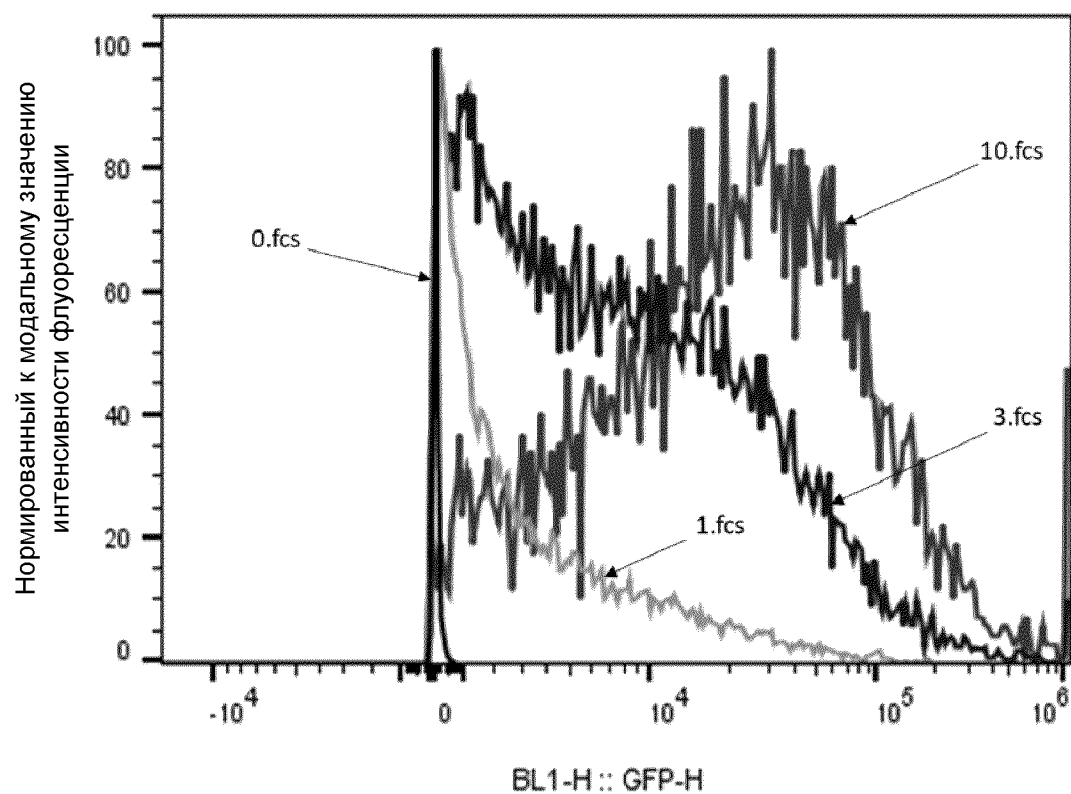
9-wft397-antigp3-hcd8-cd28tm-cd79b.fcs
 CD19-бриллиантовый фиолетовый
 421-Н, FSC-Н, субпопуляция 6594

ФИГ. 6В



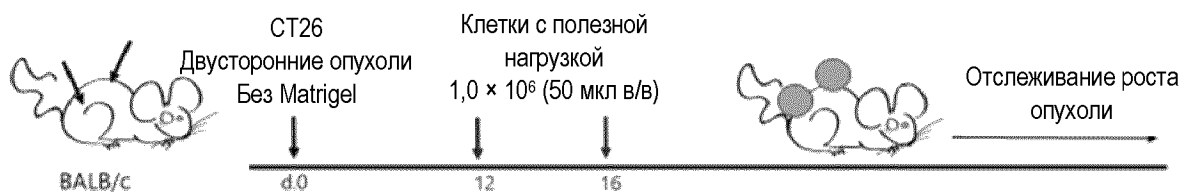
10-wft-398-psma-hcd8-tmcd28-h79a.fcs
 CD19-бриллиантовый фиолетовый
 421-Н, FSC-Н, субпопуляция 9304

ФИГ. 6С



	Название образца	Название субпопуляции	Количество
	0.fcs	CD19-бриллиантовый фиолетовый 421-H+	32219
	1.fcs	CD19-бриллиантовый фиолетовый 421-H+	17033
	3.fcs	CD19-бриллиантовый фиолетовый 421-H+	12890
	10.fcs	CD19-бриллиантовый фиолетовый 421-H+	4820

ФИГ. 7



ФИГ. 8

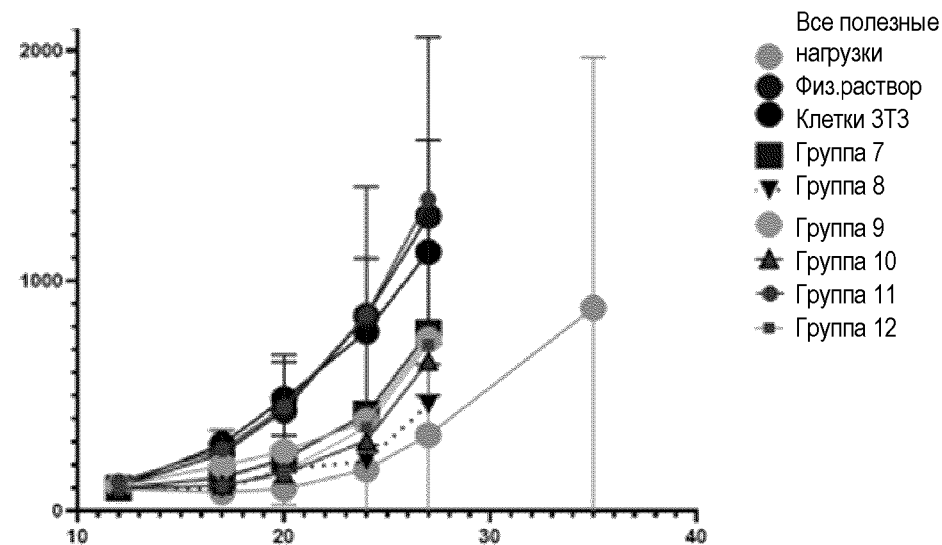
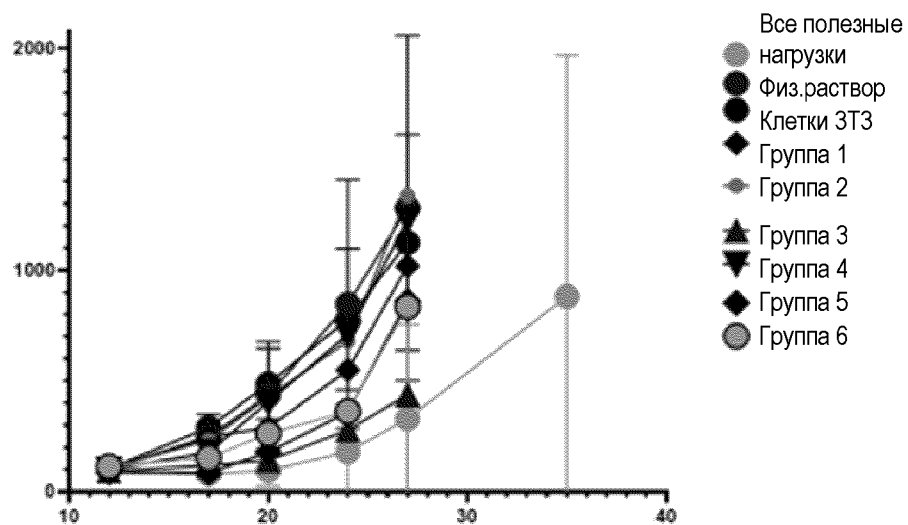
CXCL13 – в среднем 5 мышей

LIGHT – в среднем 5 мышей



1	2	3	4	5	6
FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L
XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1
CXCL13	CXCL13	CXCL13	CXCL13	CXCL13	CXCL13
TIM4-Fc	CD80-MB	CD40L-MB	IL-12 and TM	4-1BBL-MB	mIFN A2
TLR		TLR			

7	8	9	10	11	12
FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L
XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1
mLIGHT	mLIGHT	mLIGHT	mLIGHT	mLIGHT	mLIGHT
TIM4-Fc	CD80-MB	CD40L-MB	IL-12 and TM	4-1BBL-MB	mIFN A2
		TLR			



● Все полезные нагрузки = все 12 полезных нагрузок, кроме агониста TLR

8/18

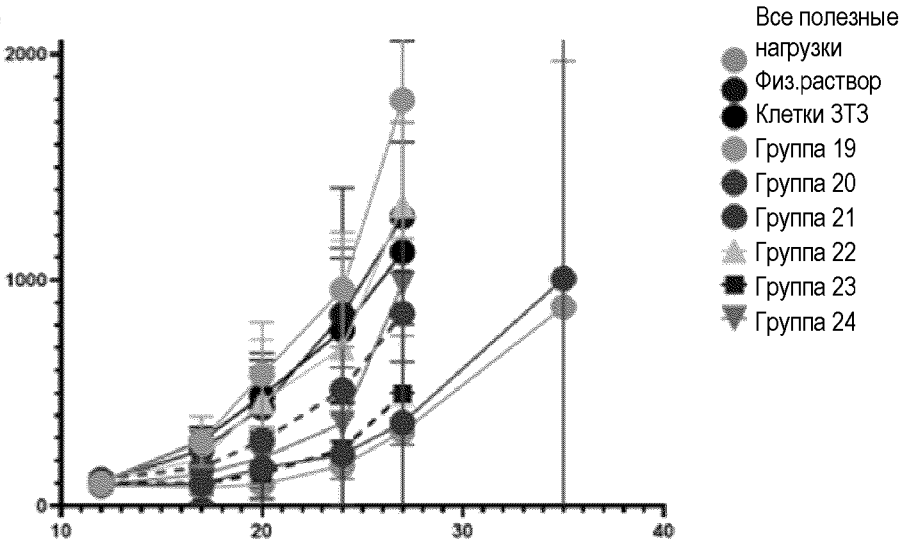
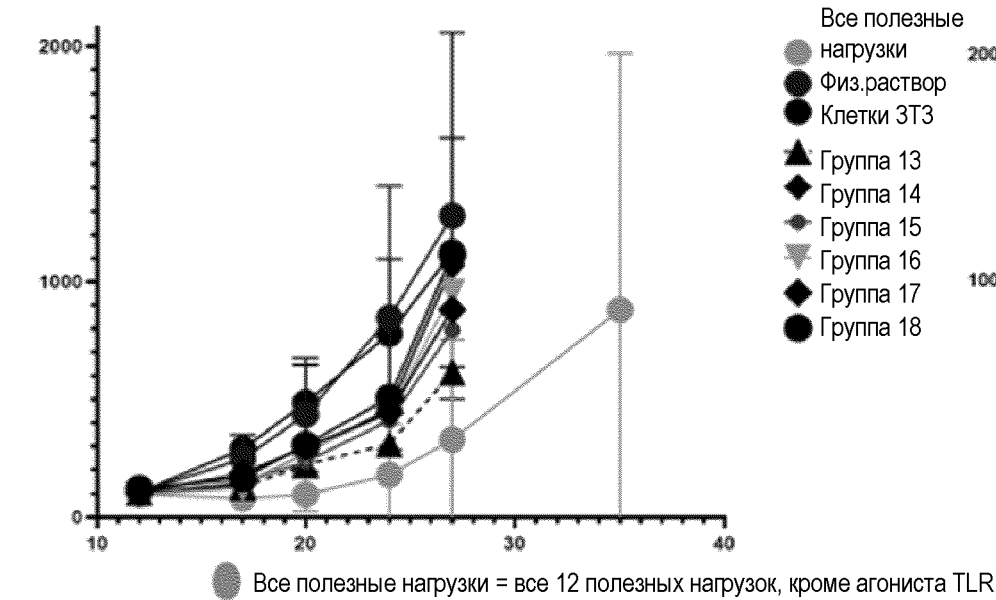
ФИГ. 9

IL-21 – в среднем 5 мышей

CCL21 – в среднем 5 мышей



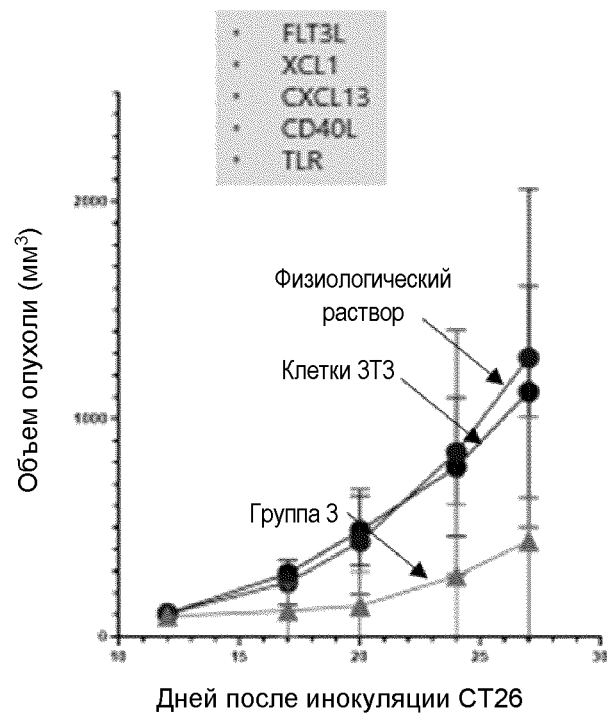
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L	FLT3L
XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1	XCL1
IL-21	IL-21	IL-21	IL-21	IL-21	IL-21	CCL21	CCL21	CCL21	CCL21	CCL21	CCL21
TIM4-Fc	CD80-MB	CD40L-MB	IL-12 and TM	4-1BBL-MB	m IFN A2	TIM4-Fc	CD80-MB	CD40L-MB	IL-12 and TM	4-1BBL-MB	m IFN A2



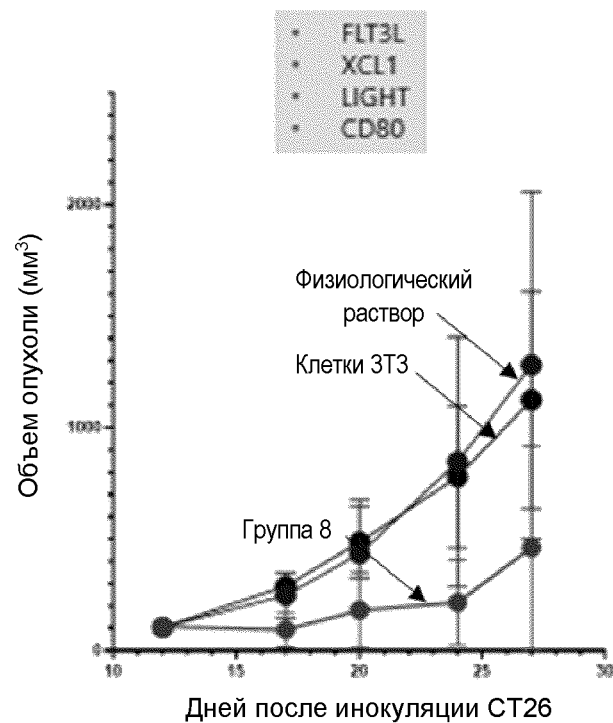
Walking Fish Therapeutics Inc. 2019 Confidential

6

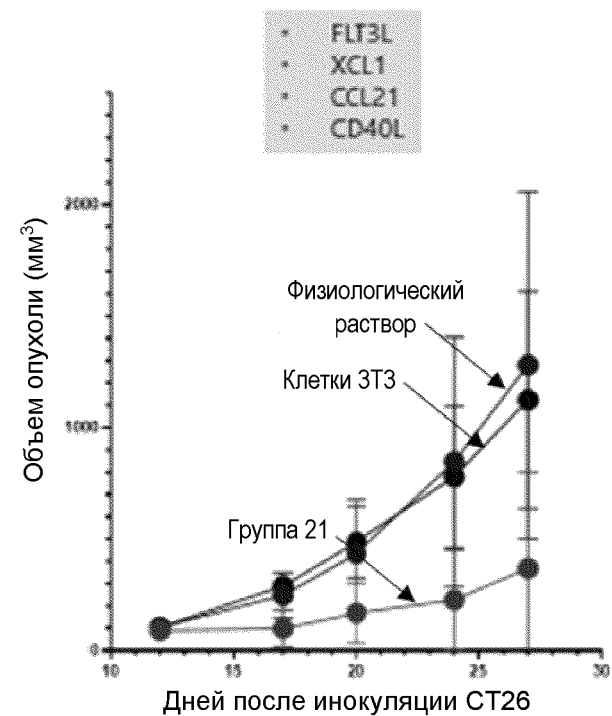
ФИГ. 10



ФИГ. 11А

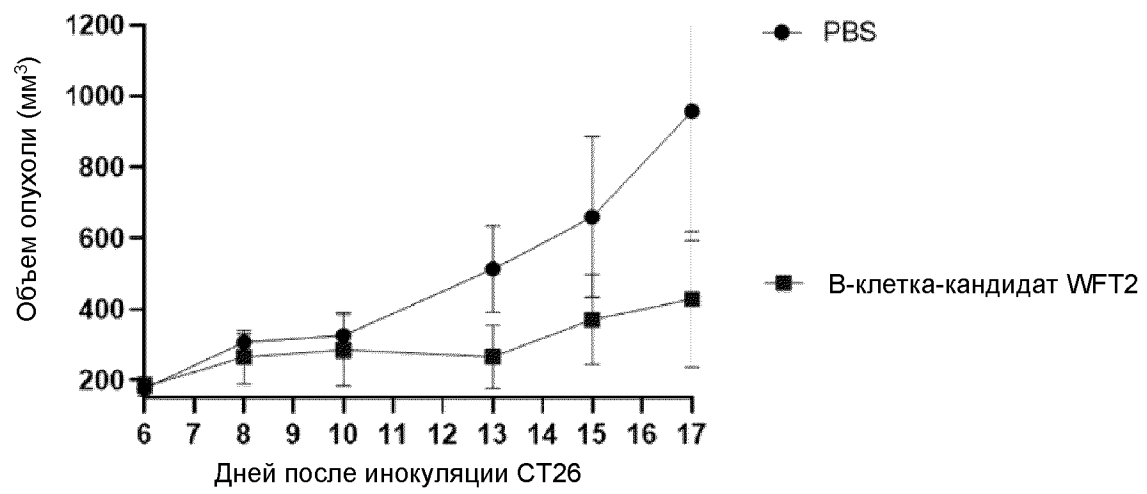


ФИГ. 11В



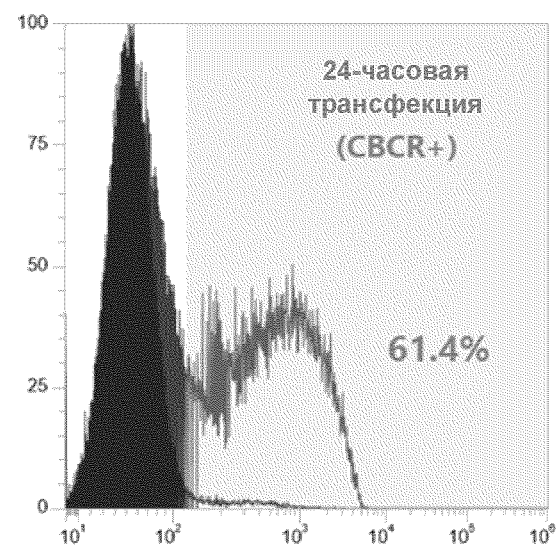
ФИГ. 11С

Абскопальный эффект В-клеток WFT2



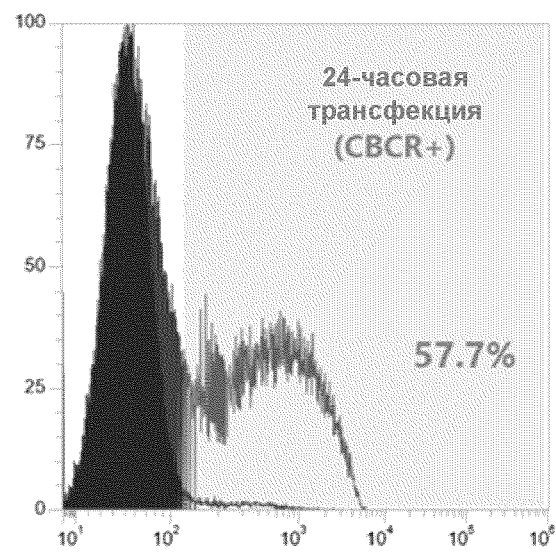
ФИГ. 12

XENP PSMA CBCR



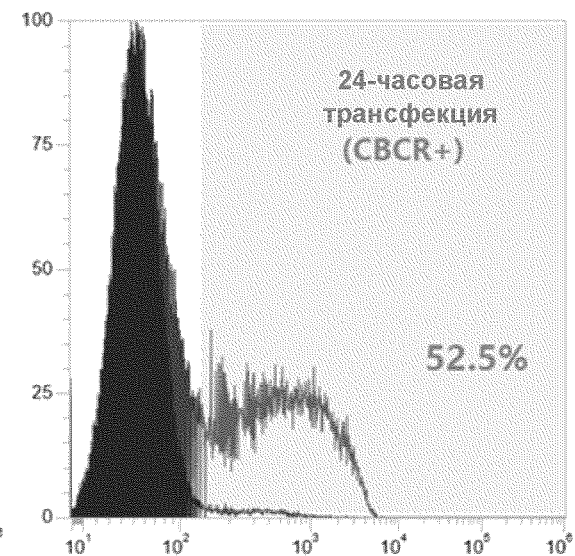
ФИГ. 13А

HyHEL10 CBCR



ФИГ. 13В

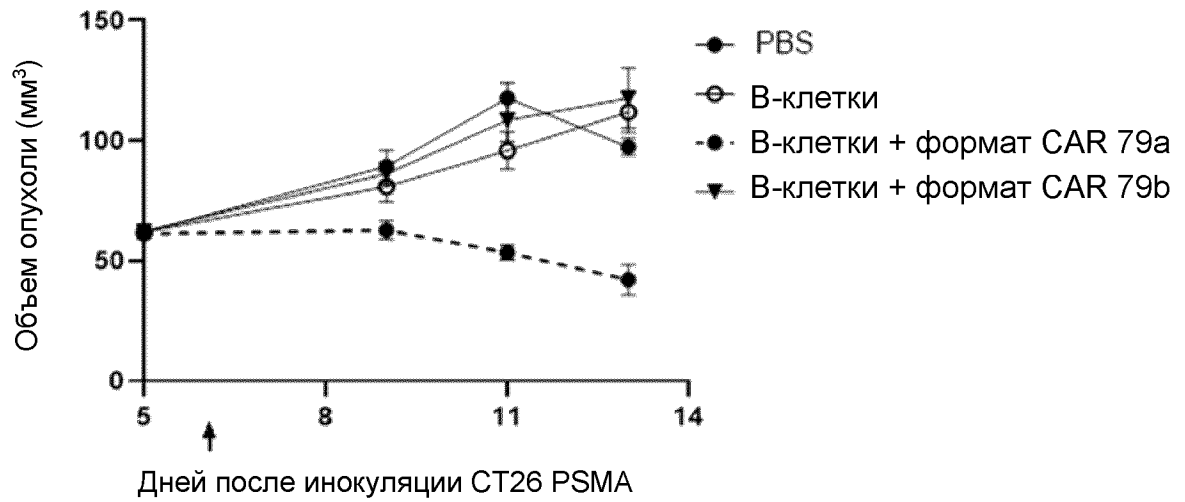
D1.3-M3 HEL CBCR



ФИГ. 13С

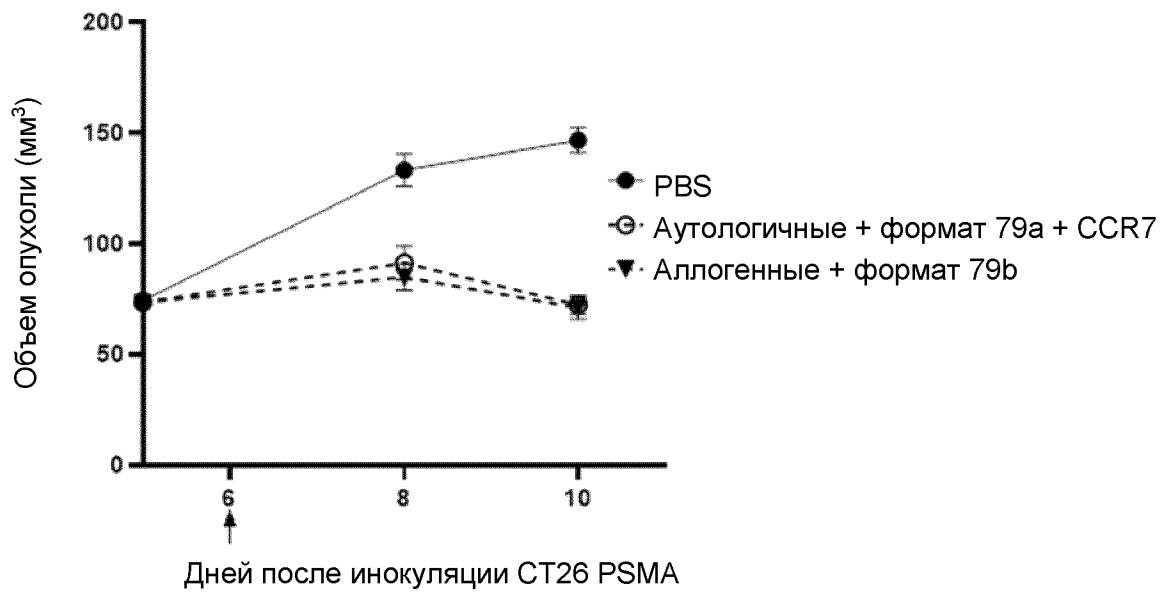
13/18

Модель опухоли СТ26 PSMA



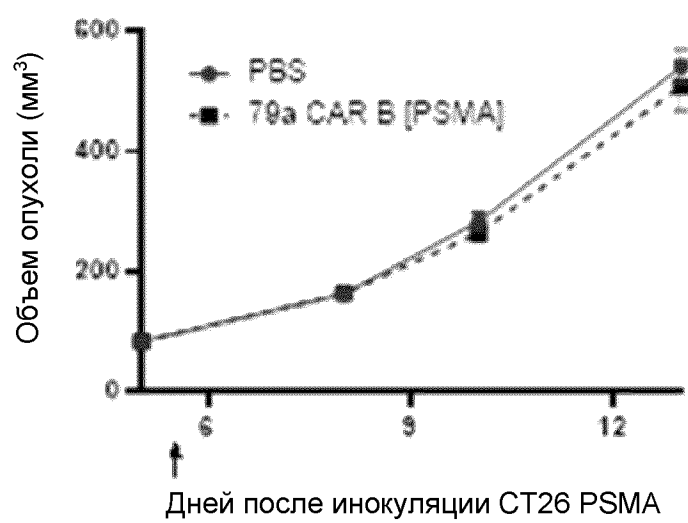
ФИГ. 14

Модель опухоли СТ26 PSMA

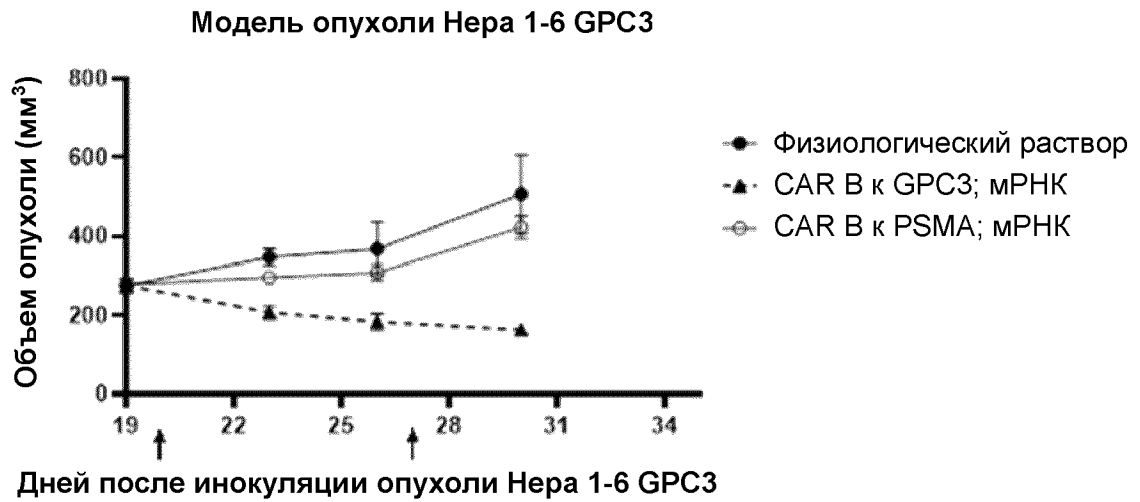


ФИГ. 15

Модель опухоли CT26 PSMA у мышей NGS

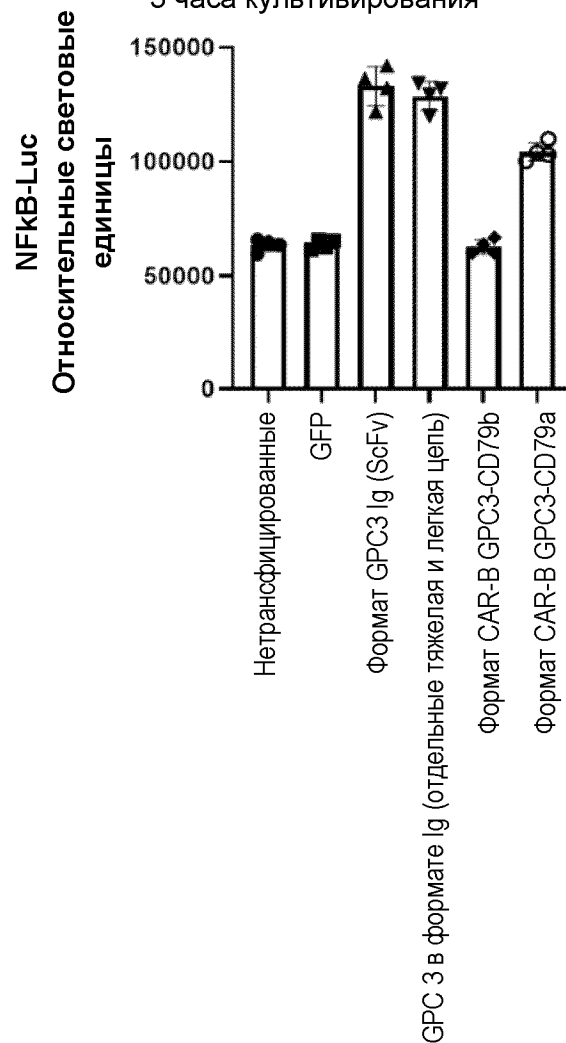


ФИГ. 16



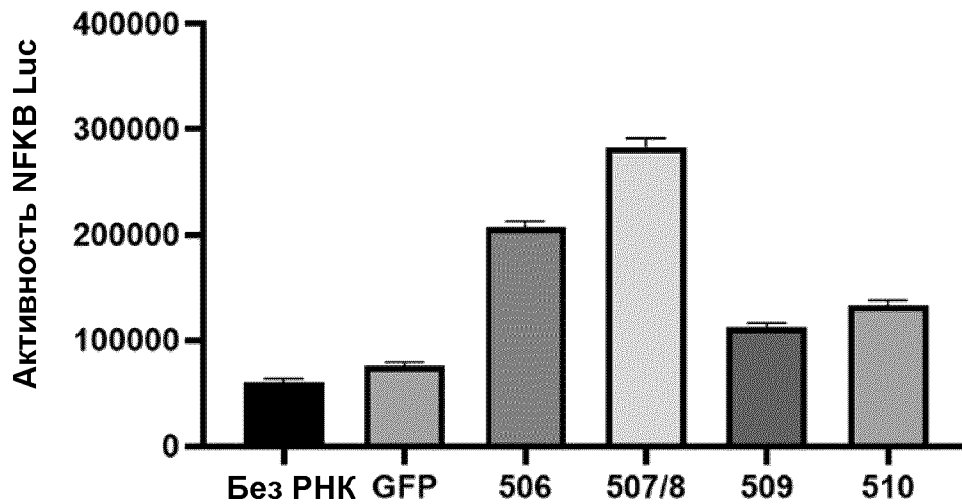
ФИГ. 17

Совместное культивирование линии В-клеток,
экспрессирующих CAR-B, с линией клеток печени,
экспрессирующих GPC3
3 часа культивирования



ФИГ. 18

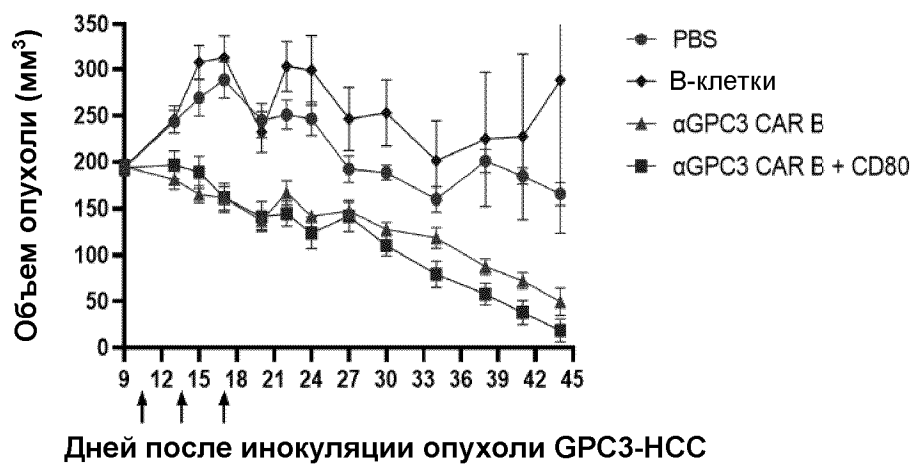
Тоническая передача сигналов – без
сшивающего агента



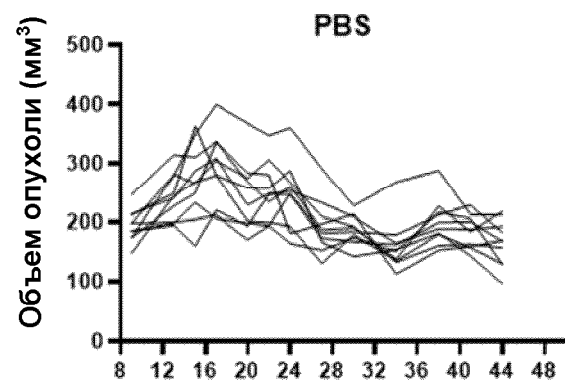
pWF-506	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-hIgG1 Fc [TM + цито] A-1
pWF-507	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 vI-hcЛямбда G-1
pWF-508	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 vH-hIgHg1 [TM + цито] H-3
pWF-509	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79bE P-1
pWF-510	pmPHK_d7_13_анти-hGPC3 scFv-hCD8H-hCD28M-hCD79aE O-3

ФИГ.19

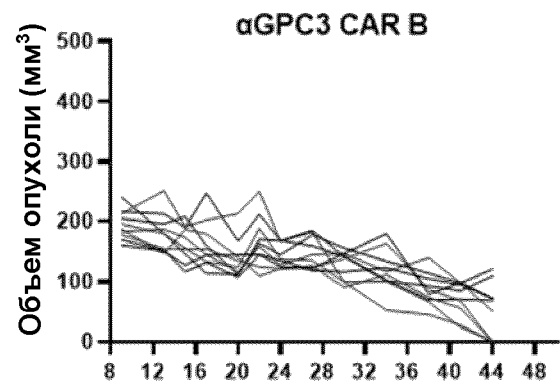
Модель опухоли GPC3 – исследование CD80



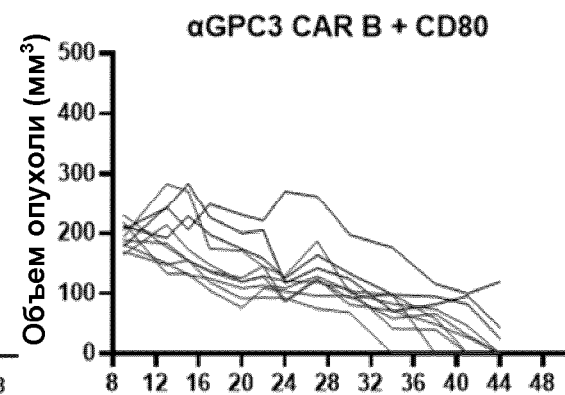
ФИГ. 20



ФИГ. 21А



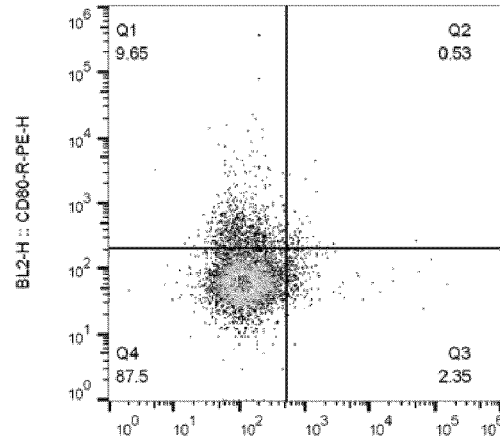
ФИГ. 21В



ФИГ. 21С

Дней после инокуляции опухоли GPC3-НСС Дней после инокуляции опухоли GPC3-НСС Дней после инокуляции опухоли GPC3-НСС

Немодифицированные В-клетки

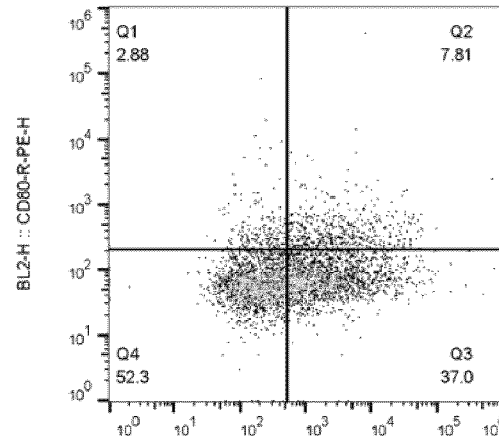


VL1-H :: GPC3-бриллиантовый фиолетовый 421-H

В-клетки-электропорация.fsc
Live Dead-Fixable ближний ИК-Н, субпопуляция SSC-A
9258

ФИГ. 22А

CD79aCAR_{GPC3}-модифицированные В-клетки

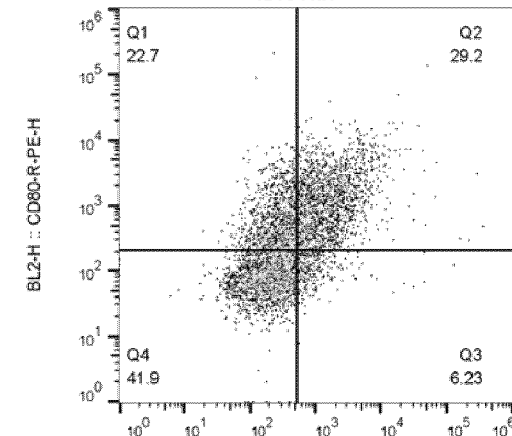


VL1-H :: GPC3-бриллиантовый фиолетовый 421-H

В-клетки с 548.fsc
Live Dead-Fixable ближний ИК-Н, субпопуляция SSC-A
6878

ФИГ. 22В

CD79aCAR_{GPC3}плюс CD80-модифицированные В-клетки



VL1-H :: GPC3-бриллиантовый фиолетовый 421-H

В-клетки с 548 и CD80.fsc
Live Dead-Fixable ближний ИК-Н, субпопуляция SSC-A
7276

ФИГ. 22С