(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202390242 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.29

(22) Дата подачи заявки
2021.02.02

(51) Int. Cl. *A61K 35/17* (2015.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C12N 5/0783 (2006.01)

(54) УНИВЕРСАЛЬНЫЕ БАНКИ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ Т-КЛЕТОК И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

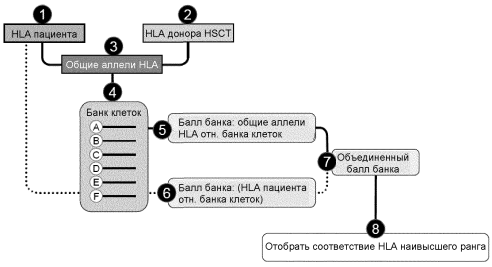
(31) **PCT/US2020/044080**
(32) **2020.07.29**
(33) **US**
(86) **PCT/US2021/016266**
(87) **WO 2022/025984 2022.02.03**

(71) Заявитель:
БЭЙЛОР КОЛЛЕДЖ ОВ МЕДИСИН (US)

(72) Изобретатель:
Лин Энн Мери, Вера Вальдес Хуан Фернандо (US)

(74) Представитель:
Билык А.В., Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Дмитриев А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Воплощения настоящего изобретения включают универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток и способы их получения и применения. Воплощения настоящего изобретения также включают способы идентификации и отбора подходящих доноров для применения в конструировании донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток; донорские минибанки линий антигенспецифических Т-клеток; универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, содержащие совокупность линий антигенспецифических Т-клеток из таких донорских минибанков, и донорские банки, составленные из совокупности таких минибанков. Настоящее изобретение включает способы лечения заболевания или состояния, включающие введение пациенту по меньшей мере одной раскрытой здесь универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток.



202390242 A1

202390242 A1

PCT/US2021/016266 **МПК:** ***A61K 35/17*** (2015.01) ***C12N 5/0783*** (2006.01) ***A61K 39/00*** (2006.01)

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ БАНКИ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ Т-КЛЕТОК И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В настоящей заявке испрашивается приоритет международной заявки № PCT/US2020/044080 в соответствии с Договором о патентной кооперации, поданной 29 июля 2020 г., которая включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Воплощения данного раскрытия касаются по меньшей мере областей клеточной биологии, молекулярной биологии, иммунологии и медицины.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Вирусные инфекции являются серьезной причиной заболеваемости и смертности после трансплантации аллогенных гематопоэтических стволовых клеток (allo-HSCT), которая представляет собой выбираемое лечение против целого ряда расстройств. Однако после трансплантации при болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD) рецидив первичного заболевания и вирусные инфекции остаются главными причинами заболеваемости и смертности. Инфекции, ассоциированные с вирусными патогенами, включают инфекции CMV (цитомегаловирус), вирусом BK (BKV) (полиомавирус человека 1) и аденовирусом (AdV), но не ограничиваются ими. Вирусные инфекции выявляются у большинства реципиентов аллотрансплантатов. Противовирусные лекарственные средства, хотя они и доступны для некоторых вирусов, не всегда являются эффективными, подчеркивая необходимость новых терапий. Одной стратегией для лечения данных вирусных инфекций является адоптивная иммунотерапия, например адоптивный перенос Т-клеток, включающий по меньшей мере инфузию имеющих происхождение от донора вирусоспецифических Т-клеток. При применении данного подхода можно выделять клетки у донора, размножать вирусоспецифические популяции *ex vivo* и, наконец, инфундировать Т-клеточный продукт реципиенту трансплантата стволовых клеток. Аналогичные подходы можно применять для лечения рака с использованием адоптивно

перенесенных Т-клеток со специфичностью в отношении опухоль-ассоциированного антигена.

Адоптивная иммунотерапия включает имплантацию или инфузию специфических в отношении заболевания и/или конструированных клеток, таких как Т-клетки (например, антигенспецифические Т-клетки и Т-клетки, экспрессирующие химерный рецептор антигена (CAR)), индивидам для распознавания, нацеливания на и разрушения клеток, ассоциированных с заболеванием. Адоптивные иммунотерапии стали многообещающим подходом для лечения многих заболеваний и расстройств, включая рак, лимфопролиферативные расстройства после трансплантации, инфекционные заболевания (например, вирусные и вызванные другими патогенами инфекции) и аутоиммунные заболевания. Например, показали, что размноженные *in vitro*, полученные от донора и принадлежащие стороннему лицу вирусоспецифические Т-клетки, нацеленные на Adv, EBV (вирус Эпштейна-Барр), CMV, BK, HHV6 (вирус герпеса человека шестого типа), являются безопасными при адоптивном переносе пациентам с вирусными инфекциями с трансплантацией стволовых клеток. Вирусоспецифические Т-клетки восстанавливли противовирусный иммунитет в отношении Adv, EBV, CMV, BK и HHV6, были эффективными в устранении заболевания и демонстрировали значительное размножение *in vivo*.

Есть два первичных типа адоптивных иммунотерапий. Аутологическая иммунотерапия включает выделение, продукцию и/или размножение клеток, таких как Т-клетки (например, антигенспецифические Т-клетки), от пациента и хранение отобранных у пациента клеток для повторного введения тому же самому пациенту по мере необходимости. Аллогенная иммунотерапия включает двух индивидов: пациента и здорового донора. Клетки, такие как Т-клетки (например, антигенспецифические Т-клетки), выделяют от здорового донора и затем осуществляют продукцию и/или размножают и вносят в банк для введения пациенту с соответствующим (или частично соответствующим) типом человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) на основе числа аллелей HLA. HLA также называют главным комплексом гистосовместимости (MHC) человека. Молекулы HLA играют ключевую роль в иммунологии трансплантата, где они являются критически важными при соответствии для пересадки органа, а также в адаптивном иммунном ответе на вирусы. Молекулы HLA класса I презентируют вирусные пептиды Т-клеткам CD8+, а молекулы HLA класса II презентируют вирусные пептиды Т-клеткам CD4+.

Allo-HSCT является куративной для целого ряда злокачественных и незлокачественных гематологических заболеваний, но приводит к периоду Т-клеточного иммунодефицита, который оставляет пациентов восприимчивыми к группе вирусов, включающей цитомегаловирус, аденовирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус герпеса человека 6 и вирус BK. Несколько исследований подтвердили противовирусную активность адоптивно перенесенных аллогенных Т-клеток, опосредованную общими аллелями HLA, подчеркивая критически важную роль взаимодействия HLA в противовирусном ответе Т-клеток. Доноры трансплантации аллогенных стволовых клеток могут быть родственными [обычно близко соответствующие по HLA брат или сестра или наполовину соответствущий по HLA гаплоидентичный донор (например, донор-родитель для его ребенка)] или неродственными (донор, который не является родственным, и для которого было обнаружено, что он имеет очень близкую степень соответствия HLA). Часто, даже когда пациенты имеют высокую степень соответствия HLA с донором, для реципиента требуются иммуносупрессивные лекарственные средства для смягчения болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD).

Болезнь «трансплантат против хозяина» (GVHD) представляет собой воспалительное заболевание, которое является уникальным для аллогенной трансплантации. Она представляет собой атаку трансплантированных или восстановленных лейкоцитов против тканей реципиента. Это может происходить, даже если донор и реципиент являются идентичными по HLA, так как иммунная система все же может распознавать другие различия между клетками/тканями. Острая GVHD типично встречается в первые 3 месяца после трансплантации и может затрагивать кожу, кишечник или печень. Стандартным лечением являются кортикостероиды, такие как преднизон.

Хроническая GVHD также может развиваться после аллогенной трансплантации и является главным источником поздних осложнений. Помимо воспаления, хроническая GVHD может приводить к развитию фиброза или рубцовой ткани, аналогично склеродермии или другим аутоиммунным заболеваниям, и может вызывать функциональное нарушение функций и потребность в длительной иммуносупрессивной терапии. GVHD обычно опосредована Т-клетками при их взаимодействии с чужеродными пептидами, презентируемыми на MHC хозяина. Таким образом, применение адоптивных Т-клеточных терапий часто ограничено барьерами,

накладываемыми несоответствием МНС. В данном раскрытии предложены решения относительно этих барьеров.

Времязатратный процесс типирования HLA пациентов для того, чтобы определить, какой частично соответствующий по HLA продукт донора является «наилучшим», уменьшает пользу и безопасность адоптивных иммунотерапий. Кроме того, для продуктов стороннего донора существует потенциал быстрого отторжения адоптивно перенесенных клеток, наиболее критически важных для лечения или предупреждения заболевания или состояния, подлежащих лечению, даже в контексте высокой степени соответствия HLA. Безопасные клеточные терапии, которые можно легко получать и/или вводить нуждающимся в этом пациентам, представляют собой давно ощущаемую потребность в данной области. Настоящее изобретение разрешает эту и другие потребности.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте настоящее изобретение включает способы разработки донорских минибанков, содержащих продукты клеточной терапии, такие как линии антигенспецифических Т-клеток. Согласно настоящему изобретению дополнительно предложены композиции и способы, где такие донорские минибанки или продукты, содержащиеся в таких донорских минибанках, комбинируют вместе для получения универсального антигенспецифического Т-клеточного продукта (например, универсального вирусоспецифического Т-клеточного продукта). Предложенные здесь универсальные антигенспецифические Т-клеточные продукты содержат популяции антигенспецифических Т-клеток. Согласно настоящему изобретению предложены композиции, содержащие указанные универсальные антигенспецифические Т-клеточные продукты, способы получения указанных универсальных антигенспецифических Т-клеточных продуктов и терапевтические способы применения указанных универсальных антигенспецифических Т-клеточных продуктов.

В разных аспектах согласно настоящему изобретению предложены популяции антигенспецифических Т-клеток, содержащие совокупность линий антигенспецифических Т-клеток, имеющих происхождение от совокупности разных доноров, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по

меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по 3 аллелям HLA.

В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному HLA класса I. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям HLA класса I. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA-A и по меньшей мере по одному аллелю HLA-B. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса II. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям HLA класса II. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и HLA-DRB1. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям, независимо выбранным из группы, состоящей из HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и HLA-DRB1. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA-DRB1 и по меньшей мере одному аллелю HLA-DQB1. В воплощениях указанная совокупность доноров имеет по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-A, по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-B, по меньшей мере 2 разных аллеля DRB1 и/или по меньшей мере 2 разных аллеля DQB1.

В воплощениях совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 3 или более чем 3 разных доноров, от 4 или более чем 4 разных доноров или от 5 или более чем 5 разных доноров. В воплощениях совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 15 или менее доноров, 14 или менее доноров, 13 или менее доноров, 12 или менее доноров, 11 или менее доноров, 10 или менее доноров, 9 или менее доноров, 8 или менее доноров, 7 или менее доноров, 6 или менее доноров, или 5 или менее доноров (например, от 2 до 5 доноров). В воплощениях совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеют происхождение от 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 разных доноров.

В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере двух других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA. В воплощениях тип HLA

каждого донора отличается от по меньшей мере двух других доноров по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере двух других доноров по меньшей мере по 3 аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере трех других доноров по меньшей мере по 3 аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от каждого другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA. В воплощениях доноры в указанной совокупности доноров не являются родственными друг другу. В воплощениях один или более доноров в указанной совокупности доноров являются родственными друг другу. В воплощениях указанная совокупность доноров содержит как родственных, так и неродственных доноров.

В воплощениях по меньшей мере один из совокупности разных доноров соответствует по меньшей мере по двум аллелям HLA наибольшему возможному числу пациентов в перспективной популяции пациентов. В воплощениях по меньшей мере один из совокупности разных доноров соответствует по меньшей мере по трем аллелям HLA наибольшему возможному числу пациентов в перспективной популяции пациентов. В воплощениях указанная популяция антигенспецифических Т-клеток, содержащая совокупность линий антигенспецифических Т-клеток, содержит Т-клетки, которые соответствуют по каждому аллелю HLA одному или более чем одному пациенту в перспективной популяции пациентов.

В аспектах популяции антигенспецифических Т-клеток содержат линии антигенспецифических Т-клеток, которые являются клональными, олигоклональными и/или поликлональными. В воплощениях популяции антигенспецифических Т-клеток содержат линии антигенспецифических Т-клеток, где одна или более чем одна линия Т-клеток является поликлональной. В воплощениях все линии антигенспецифических Т-клеток в популяции являются поликлональными.

В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после получения каждой линии клеток. В воплощениях указанные линии антигенспецифических Т-клеток оценивают на идентичность, жизнеспособность, стерильность, фенотип, эффективность и/или аллореактивность линии клеток. В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток индивидуально оценивают на идентичность, жизнеспособность, стерильность, фенотип, эффективность и/или аллореактивность линии клеток перед объединением в пул. В воплощениях эффективность линии клеток оценивают по фенотипу, продукции эффекторных

молекул и/или цитолитической функции. Например, в воплощениях эффективность линии клеток оценивают по продукции IFNγ (интерферон-гамма), TNFα (фактор некроза опухолей-альфа), IL-2 (интерлейкин-2) и/или гранзима B. В воплощениях эффективность линии клеток оценивают по измерению цитолитической активности против клеток-мишеней, например в анализе высвобождения хрома. В воплощениях эффективность линии клеток оценивают посредством определения фенотипа указанных клеток. Например, в воплощениях эффективность линии клеток оценивают посредством измерения повышающей регуляции активации и/или маркеров дегранулирования (например, CD25, CD69, CD62L, CD44, CD28 и/или CD107a). В воплощениях фенотип определяют посредством проточной цитометрии. В воплощениях каждая линия клеток содержит по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% Т-клеток CD3+. В воплощениях каждая линия клеток содержит по меньшей мере 90% Т-клеток CD3+. В воплощениях стерильность каждой линии клеток определяют посредством анализа на бактериальное загрязнение, грибное загрязнение, микоплазму и/или уровни эндотоксинов. В других воплощениях каждая линия клеток имеет уровень эндотоксина менее чем 5 EU (единица эндотоксина)/мл. В воплощениях аллореактивность каждой линии антигенспецифических Т-клеток против неродственных и/или частично соответствующих по HLA, и/или не соответствующих по HLA клеток-мишеней оценивают посредством анализа высвобождения хрома. В воплощениях после объединения в пул линий антигенспецифических Т-клеток указанный пул линий клеток типирован по HLA. В воплощениях указанный пул линий клеток проанализирован на функциональные ответы с использованием HLA-ограниченных эпитопов.

В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток объединяют в пул при соотношении приблизительно 1:1. В воплощениях, где популяция антигенспецифических клеток содержит две разные линии антигенспецифических Т-клеток, указанные линии Т-клеток объединяют в пул в соотношении, варьирующем от приблизительно 10:1 до приблизительно 1:10 для каждой линии клеток относительно другой линии клеток, например приблизительно 10:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 или 1:10. В воплощениях, где популяция антигенспецифических Т-клеток содержит более чем две разные линии Т-клеток, можно использовать любые соотношения в пределах вышеупомянутых интервалов.

Например, в воплощениях популяция антигенспецифических Т-клеток может содержать четыре разные линии Т-клеток, объединенные в пул в соотношении приблизительно 4:3:2:1. В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток объединены в пул в соотношении приблизительно 1:1 для каждой линии Т-клеток в популяции, например для популяции, содержащей четыре разные линии Т-клеток – в соотношении приблизительно 1:1:1:1.

В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул в виде свежих линий клеток без какой-либо стадии замораживания-оттаивания или криоконсервирования. В других воплощениях указанный объединенный в пул продукт подвергают криоконсервированию. В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после того, как каждую линию клеток индивидуально подвергали криоконсервированию и затем, впоследствии, оттаиванию. В воплощениях линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора проанализированы на идентичность, жизнеспособность, стерильность, фенотип, эффективность и/или аллореактивность линии клеток; затем подвергнуты криоконсервированию в виде индивидуальных линий клеток; затем оттаиванию; и затем объединены в пул с получением универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками. Возможно образующийся в результате универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками можно использовать в качестве клеточной терапии без дальнейшей стадии замораживания-оттаивания или можно криоконсервировать для применения позднее в качестве продукта клеточной терапии.

В воплощениях популяция антигенспецифических Т-клеток содержит от приблизительно 10×10^6 до приблизительно 100×10^6 Т-клеток. В воплощениях указанная популяция содержит приблизительно 10×10^6, приблизительно 20×10^6, приблизительно 30×10^6, приблизительно 40×10^6, приблизительно 50×10^6, приблизительно 60×10^6, приблизительно 70×10^6, приблизительно 80×10^6, приблизительно 90×10^6 или приблизительно 100×10^6 Т-клеток. В воплощениях указанная популяция содержит приблизительно 45×10^6 Т-клеток. В воплощениях согласно настоящему изобретению предложена композиция, содержащая популяцию антигенспецифических Т-клеток, содержащую от приблизительно $2{,}5\times10^6$ Т-клеток/мл до приблизительно 25×10^6 Т-клеток/мл.

В воплощениях популяция антигенспецифических Т-клеток содержит Т-клетки, которые являются специфическими в отношении одного или более чем одного вирусного антигена или одного или более чем одного опухоль-ассоциированного антигена. В воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки представляют собой вирусоспецифические Т-клетки (VST). В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложен универсальный продукт VST, именуемый здесь UVST. В воплощениях указанный один или более чем один вирусный антиген имеет происхождение от одного или более чем одного вируса, выбранного из группы, состоящей из вируса Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловируса (CMV), аденовируса (AdV), вируса BK (BKV), вируса JC (вирус Джона Каннингема), вируса герпеса человека 6 (HHV6), респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека (hMPV), парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, вируса простого герпеса (HSV), вируса гепатита B (HBV), вируса гепатита C (HBC), вируса гепатита D (HBD), вируса папилломы человека (HPV), вируса иммунодефицита человека (HIV), вируса Т-клеточного лейкоза типа 1 человека (HTLV1), вируса герпеса 8 человека (HHV8), вируса Западного Нила, вируса Зика и вируса Эбола. В воплощениях один или более чем один вирусный антиген содержит антигены от BKV, CMV, AdV, EBV и HHV-6. В воплощениях указанный один или более чем один вирусный антиген содержит антигены от RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа и hMPV. В воплощениях указанный один или более чем один вирусный антиген содержит антигены от коронавируса. В воплощениях указанный коронавирус представляет собой SARS-Cov-2. В воплощениях указанный один или более чем один вирусный антиген содержит антигены от HBV. В воплощениях указанный один или более чем один вирусный антиген содержит антигены от HHV-8.

В воплощениях указанный один или более чем один опухоль-ассоциированный антиген, выбран из группы, состоящей из следующих: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутантный Ras, gp 100, мутантный p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA,

hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

Согласно настоящему раскрытию предложены композиции, содержащие предложенную здесь популяцию антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложена универсальная композиция антигенспецифических Т-клеток, содержащая популяцию предложенных здесь антигенспецифических Т-клеток и/или содержащая предложенные здесь линии антигенспецифических Т-клеток. Например, в воплощениях настоящего изобретения предложена универсальная VST (UVST). В воплощениях предложенные композиции криоконсервируют или подвергли криоконсервированию. В воплощениях указанные композиции содержат среду для криоконсервирования. В воплощениях указанная среда для криоконсервирования содержит человеческий сывороточный альбумин, сбалансированный солевой раствор Хэнка и диметилсульфоксид (DMSO). В воплощениях указанная среда содержит приблизительно 10% (об./об.) DMSO. В воплощениях указанная среда для криоконсервирования содержит приблизительно 50% (об./об.) 25%-ного человеческого сывороточного альбумина и приблизительно 40% (об./об.) HBSS.

В воплощениях указанная популяция антигенспецифических Т-клеток была модифицирована для экспрессии экзогенной молекулы. Например, в воплощениях указанная экзогенная молекула представляет собой терапевтическое средство. В других воплощениях указанное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое лекарственное средство, цитокин, хемокин, низкомолекулярный ингибитор роста опухолей или молекулу, которая секвестрирует молекулы иммуноингибитора. В воплощениях указанная экзогенная молекула представляет собой трансгенную молекулу. Таким образом, в воплощениях согласно настоящему раскрытию предложена популяция антигенспецифических Т-клеток, где антигенспецифические Т-клетки в пределах данной популяции были трансдуцированы трансгеном, кодирующим экзогенную молекулу. В воплощениях указанная трансгенная

молекула содержит внеклеточный связывающий домен, трансмембранный домен и сигнальный домен. В воплощениях указанный внеклеточный связывающий домен является специфическим в отношении ракового антигена. В воплощениях указанная трансгенная молекула представляет собой химерный рецептор антигена (CAR), рецептор Т-клетки (TCR) или рецептор NK-клетки (природные киллеры) (например, NKG2D). В воплощениях Т-клетки в пределах одной или более чем одной линии антигенспецифических Т-клеток были модифицированы для экспрессии указанной экзогенной молекулы. В воплощениях Т-клетки в пределах всех линий антигенспецифических Т-клеток в популяции были модифицированы для экспрессии указанной экзогенной молекулы. В воплощениях Т-клетки в пределах указанной объединенной в пул популяции были модифицированы для экспрессии указанной экзогенной молекулы. В воплощениях по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85% или по меньшей мере приблизительно 90% Т-клеток в линии Т-клеток и/или в популяции линий Т-клеток экспрессируют указанную экзогенную молекулу.

В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложен универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащий популяцию предложенных здесь антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях указанный продукт демонстрирует отсутствие аллореактивности на частично соответствующие по HLA и/или не соответствующие по HLA клетки-мишени. В воплощениях указанный продукт демонстрирует отсутствие аллореактивности против клеток в целевой популяции. В воплощениях указанный продукт может находиться в форме композиции, содержащей популяцию антигенспецифических Т-клеток, составляющих указанный продукт. В воплощениях указанный продукт может находиться в форме отдельных композиций, причем каждая содержит одну или более чем одну линию антигенспецифических Т-клеток. В таких воплощениях отдельные композиции предназначены для введения пациенту в одной сессии дозирования, как здесь описано

далее.

В воплощениях универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками содержит линии антигенспецифических Т-клеток с достаточным разнообразием HLA по отношению друг к другу, так что они в совокупности предоставляют по меньшей мере одну линию антигенспецифических Т-клеток, которая соответствует по меньшей мере по 2 аллелям HLA по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или по меньшей мере приблизительно 99% популяции перспективных пациентов.

В аспектах согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния у пациента, включающие введение указанному пациенту предложенных здесь популяции линий антигенспецифических Т-клеток, композиции или универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками. В воплощениях указанные популяция, композиция или продукт Т-клеточной терапии содержат смесь Т-клеток, где указанная смесь Т-клеток содержит Т-клетки, которые частично соответствуют по HLA, Т-клетки, которые частично не соответствуют по HLA, и Т-клетки, которые полностью не соответствуют по типу HLA пациента.

В аспектах согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния у пациента, включающие введение указанному пациенту универсальной терапии антигенспецифическими Т-клетками в одной сессии дозирования. В воплощениях указанная универсальная терапия антигенспецифическими Т-клетками находится в форме одной композиции, содержащей популяцию антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях указанная универсальная терапия антигенспецифическими Т-клетками находится в форме отдельных композиций, причем каждая композиция содержит одну или более чем одну индивидуальную линию Т-клеток. В таких воплощениях указанные способы включают введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток от совокупности разных доноров, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA, и где указанный способ включает введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток в одной сессии дозирования.

В воплощениях введение в одной сессии дозирования включает введение

совокупности линий антигенспецифических Т-клеток пациенту одновременно в одной и той же композиции. В воплощениях введение в одной сессии дозирования включает введение совокупности линий антигенспецифических Т-клеток пациенту в отдельных композициях, вводимых последовательно. В воплощениях последовательные введения осуществлвляют в пределах 5 минут друг от друга, или в пределах 30 минут друг от друга, или в пределах 1 часа друг от друга. В воплощениях последовательные введения осуществлвляют в одной сессии дозирования таким образом, что пациент получает все введения в те же самые сутки и не подвергается анализу на эффективность и/или долговечность одной или более чем одной линии Т-клеток перед введением одной или более чем одной дополнительной линии Т-клеток универсальной терапии антигенспецифическими Т-клетками.

В воплощениях предложенные здесь способы включают введение субъекту универсальной терапии антигенспецифическими Т-клетками, где указанная универсальная терапия антигенспецифическими Т-клетками включает смесь Т-клеток, содержащую Т-клетки, которые частично соответствуют типу HLA пациента, и Т-клетки, которые полностью не соответствуют типу HLA пациента.

В воплощениях предложенные здесь способы включают введение пациенту дозы от приблизительно 10×10^6 до приблизительно 100×10^6 антигенспецифических Т-клеток, или от приблизительно 20×10^6 до приблизительно 80×10^6 антигенспецифических Т-клеток, или от приблизительно 30×10^6 до приблизительно 60×10^6 антигенспецифических Т-клеток, или от приблизительно 40×10^6 до приблизительно 50×10^6 антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях указанные способы включают введение пациенту дозы приблизительно 45×10^6 Т-клеток.

В воплощениях указанные способы включают объединение в пул или иное введение пациенту в одной сессии дозирования двух или более чем двух индивидуальных продуктов антигенспецифических Т-клеток, или объединение в пул или иное введение в одной сессии дозирования одного или более чем одного универсального продукта антигенспецифических Т-клеток с одной или более чем одной индивидуальной линией антигенспецифических Т-клеток.

В воплощениях указанное заболевание или состояние представляет собой вирусную инфекцию. В воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки представляют собой вирусоспецифические Т-клетки (VST). В воплощениях указанный

способ достигает уменьшения вирусной нагрузки у пациента и/или уменьшения или устранения симптомов заболевания, ассоциированного с указанной вирусной инфекцией. В воплощениях указанный способ достигает более быстрого разрешения вирусной инфекции относительно пациента, который не получал VST.

В воплощениях указанный пациент имеет ослабленный иммунитет. В воплощениях указанный пациент имеет ослабленный иммунитет из-за лечения, которое получал указанный пациент для лечения указанного заболевания или состояния, или другого заболевания или состояния. В воплощениях указанный пациент имеет ослабленный иммунитет в силу возраста. В воплощениях указанный пациент имеет ослабленный иммунитет в силу юного возраста или пожилого возраста.

В воплощениях указанное состояние представляет собой иммунодефицит. В воплощениях указанный иммунодефицит представляет собой первичный иммунодефицит. В воплощениях указанный пациент нуждается в трансплантации. В воплощениях указанный пациент получил трансплантат.

В воплощениях указанное заболевание или состояние представляет собой рак. В воплощениях указанный рак выбран из группы, состоящей из рака легкого, рака кишечника, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака желчного протока, рака поджелудочной железы, рака яичка, рака простаты, рака яичника, рака молочной железы, меланомы, саркомы мягкой ткани, лимфомы, лейкоза и множественной миеломы.

В аспектах согласно настоящему раскрытию предложены способы получения универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащего популяцию антигенспецифических Т-клеток, включающие (1) культивирование мононуклеарных клеток от каждого донора из совокупности доноров (например, совокупность доноров, у которых тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA, и/или совокупность подходящих доноров для включения в донорский минибанк, как здесь описано), каждых в отдельной культуре в присутствии одного или более чем одного цитокина и одного или более чем одного антигена, с получением совокупности индивидуальных клеточных линий размноженных антигенспецифических Т-клеток, и (2) объединение в пул указанных индивидуальных клеточных линий с получением универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками. В воплощениях указанные мононуклеарные клетки представляют собой мононуклеарные клетки

периферической крови (PBMC). В воплощениях указанные способы дополнительно включают одну или более чем одну стадию замораживания-оттаивания. Например, в воплощениях каждую линию клеток подвергают криоконсервированию и затем оттаивают перед объединением в пул в (2). В других воплощениях каждую линию клеток объединяют в пул в виде свежеприготовленной линии клеток без какой-либо стадии замораживания-оттаивания перед объединением в пул в (2). В воплощениях указанные способы включают замораживание пула линий клеток, полученного в (2). В воплощениях указанные способы включают получение совокупности индивидуальных линий клеток, как предложено в (1), определение идентичности, жизнеспособности, стерильности, фенотипа, эффективности и/или аллореактивности линии клеток, замораживание индивидуальных линий клеток, затем оттаивание индивидуальных линий клеток и объединение в пул указанных линий клеток с образованием универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками. В качестве альтернативы, указанные способы включают получение совокупности индивидуальных линий клеток, как предложено в (1), замораживание указанных индивидуальных линий клеток, оттаивание указанных индивидуальных линий клеток и затем определение идентичности, жизнеспособности, стерильности, фенотипа, эффективности и/или аллореактивности указанной линии клеток, затем либо объединение индивидуальных линий клеток в пул с образованием универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, либо повторное замораживание индивидуальных линий клеток перед последующим оттаиванием и объединением в пул с образованием универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками. В воплощениях согласно данному раскрытию предложен способ получения универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащего популяцию антигенспецифических Т-клеток, включающий (1) объединение в пул мононуклеарных клеток от каждого донора из совокупности доноров (например, совокупности доноров, у которых тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA, и/или совокупности подходящих доноров для включения в донорский минибанк, как здесь описано), и (2) культивирование указанного пула мононуклеарных клеток в присутствии одного или более чем одного цитокина и одного или более чем одного антигена с получением популяции размноженных антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях указанные мононуклеарные клетки представляют собой мононуклеарные клетки периферической

крови (PBMC). В воплощениях идентичность, жизнеспособность, стерильность, фенотип, эффективность и/или аллореактивность объединенных клеток определяют, как здесь предложено. В воплощениях указанные объединенные в пул клетки могут быть заморожены после стадии (1) и/или (2).

Таким образом, в воплощениях предложенные здесь способы включают замораживание индивидуальных линий антигенспецифических Т-клеток и/или объединенных универсальных продуктов терапии антигенспецифическими Т-клетками в среде для криоконсервирования. В воплощениях указанная среда для криоконсервирования содержит человеческий сывороточный альбумин, сбалансированный солевой раствор Хэнка (HBSS) и диметилсульфоксид (DMSO). В воплощениях указанная среда содержит приблизительно 10% (об./об.) DMSO. В воплощениях указанная среда содержит приблизительно 50% (об./об.) 25%-ного человеческого сывороточного альбумина и приблизительно 40% (об./об.) HBSS. В воплощениях указанный объединенный в пул универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками подвергают криоконсервированию и хранят, пока его не выбирают для применения в способе лечения заболевания или состояния у пациента. Соответственно, согласно настоящему раскрытию предложены композиции, содержащие линии антигенспецифических Т-клеток и/или объединенные в пул универсальные продукты терапии антигенспецифическими Т-клетками в среде для криоконсервирования. В воплощениях указанные способы дополнительно включают одну или более чем одну стадию фильтрования. В воплощениях указанные способы дополнительно включают фильтрование каждой линии клеток, полученной на стадии (1) в предыдущем абзаце. В воплощениях указанные способы дополнительно включают фильтрование каждой линии клеток и/или фильтрование объединенных в пул универсальных продуктов терапии антигенспецифическими Т-клетками, полученных в (2) в предыдущем абзаце. В воплощениях указанные способы дополнительно включают фильтрование каждой линии клеток и/или фильтрование объединенного в пул универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками до и/или после стадии замораживания-оттаивания.

В воплощениях указанные способы дополнительно включают трансфицирование трансгеном одной или более чем одной индивидуальной линии клеток, полученной в (1) двух предшествующих абзацев. В воплощениях указанные способы дополнительно включают трансфицирование трансгеном объединенных в пул

линий клеток, полученных в (2) двух предшествующих абзацев. В воплощениях указанный трансген кодирует химерный рецептор антигена (CAR), рецептор Т-клетки (TCR) или рецептор NK-клетки.

В воплощениях стадию культивирования предложенных здесь способов получения осуществляют в сосуде, содержащем газопроницаемую культуральную поверхность. В воплощениях указанный сосуд представляет собой биореактор GRex. В воплощениях один или более чем один цитокин, с которым культивируют мононуклеарные клетки и антигены, выбран из группы, состоящей из IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и их комбинации. В воплощениях указанный один или более чем один цитокин, с которым культивируют мононуклеарные клетки и антигены, выбран из группы, состоящей из IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 и их комбинации, и где указанные цитокины не содержат IL-2. В воплощениях указанный один или более чем один цитокин, с которым культивируют мононуклеарные клетки и антигены, представляет собой IL-4 и/или IL-7. В воплощениях указанные цитокины содержат IL-4 и IL-7 и не содержат IL-2.

В воплощениях указанный один или более чем один антиген находится в виде: (а) цельного белка, (б) смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или полную последовательность каждого антигена, или (в) комбинации (а) и (б). В воплощениях указанные антигены содержат по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более разных смесей пептидов.

В воплощениях указанный один или более чем один антиген представляет собой вирусные антигены или опухоль-ассоциированные антигены. В воплощениях каждый антиген в культуре представляет собой вирусный антиген. В воплощениях указанные вирусные антигены имеют происхождение от вируса, выбранного из EBV, CMV, аденовируса, BK, вируса JC, HHV6, RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, LCMV, вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека, парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, HSV, HBV, HCV, HDV, HPV, HIV, HTLV1, HHV8, вируса Западного Нила, вируса Зика и вируса Эбола.

В воплощениях каждый антиген в культуре представляет собой опухоль-ассоциированный антиген. В воплощениях опухоль-ассоциированные антигены представляют собой один или более чем один из из следующих: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2,

ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутантный Ras, gp 100, мутантный p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

В одном аспекте настоящее изобретение включает способы разработки донорских минибанков, содержащих предложенные здесь продукты клеточной терапии, такие как линии антигенспецифических Т-клеток и универсальные продукты антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях настоящее раскрытие включает способы идентификации одного или более чем одного подходящего донора из по меньшей мере одного пула доноров, которые имеют разные типы аллелей HLA (человеческий лейкоцитарный антиген), совместимые с большинством перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные перспективные пациенты подвергались аллогенной трансплантации гематопоэтических стволовых клеток (HSCT). В некоторых воплощениях указанные перспективные пациенты имеют подавленный иммунитет или ослабленный иммунитет. В разных воплощениях способы по настоящему изобретению касаются восстановления Т-клеточного иммунитета пациентов, которые имеют ослабленный иммунитет.

В некоторых воплощениях идентификация одного или более чем одного подходящего донора в способах по настоящему изобретению касается конструирования первого донорского минибанка, содержащего совокупность продуктов клеточной терапии. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк содержит линии антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях способы в настоящем раскрытии включают способ отбора донора. В некоторых воплощениях указанный способ отбора донора включает (а) сравнение типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов; (б) определение, на основе сравнения в вышеупомянутой стадии (а),

первого донора с наибольшим соответствием, где указанный первый донор с наибольшим соответствием может быть определен как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей HLA с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов; (в) отбор первого донора с наибольшим соответствием для включения в первый донорский минибанк; (г) удаление из первого пула доноров указанного первого донора с наибольшим соответствием; где вышеупомянутая стадия (г) может генерировать второй пул доноров, состоящий из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием; (д) удаление из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием, где вышупомянутая стадия (д) включает получение второй совокупности перспективных пациентов, состоящей из каждого из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием; и (е) повторение вышеуказанных стадий (а)-(д) один или более дополнительных раз со всеми донорами и перспективными пациентами, которые еще не были удалены в соответствии с вышеуказанными стадиями (г) и (д). В некоторых воплощениях каждый раз, когда отбирают дополнительного донора с наибольшим соответствием, согласно вышеуказанной стадии (в), этого дополнительного донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров согласно вышеуказанной стадии (г). В некоторых воплощениях каждый раз при удалении последующего донора с наибольшим соответствием из соответствующего ему пула доноров, каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с последующим донором с наибольшим соответствием, удаляют из соответствующей ему совокупности перспективных пациентов согласно вышеуказанной стадии (д). В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут последовательно увеличивать число отобранных доноров с наибольшим соответствием в первом донорском минибанке на 1 после каждого цикла данного способа. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут уменьшать число пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла данного способа согласно их соответствию HLA с отобранными донорами с

наибольшим соответствием. В других воплощениях вышеуказанные стадии (а)-(д) можно повторять, пока не остается желательная процентная доля первой популяции перспективных пациентов в совокупности перспективных пациентов. В других воплощениях вышеуказанные стадии (а)-(д) можно повторять, пока в пуле доноров не останется доноров.

Согласно настоящему раскрытию предложено, что вышеуказанные стадии (а)-(д) способов, как здесь описано, можно повторять согласно вышеуказанной стадии (е), пока в совокупности перспективных пациентов не останется 5% или менее из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк, как здесь описано, может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 10 или менее чем 10 доноров. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк, как здесь описано, может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 доноров. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк, как здесь описано, может содержать достаточную вариабельность HLA, чтобы обеспечивать более чем 95% первой популяции перспективных пациентов одной или более чем одной линией антигенспецифических Т-клеток, которые соответствуют типу HLA пациента по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В других воплощениях первый донорский минибанк, как здесь описано, может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 5 или менее чем 5 доноров. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк, как здесь описано, может обеспечивать достаточную вариабельность HLA, чтобы обеспечивать более чем 95% первой популяции перспективных пациентов одной или более чем одной линией антигенспецифических Т-клеток, которая соответствует типу HLA пациента по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В некоторых воплощениях данные 2 или более чем 2 аллеля из вышеуказанных стадий (б) и (д) могут содержать по меньшей мере 2 аллеля HLA класса I. В некоторых воплощениях данные 2 или более чем 2 аллеля из вышеуказанных стадий (б) и (д) могут содержать по меньшей мере 2 аллеля HLA класса II. В некоторых воплощениях данные 2 или более чем 2 аллеля из вышеуказанных стадий (б) и (д) могут содержать по меньшей мере 1 аллель HLA класса I и по меньшей мере 1 аллель HLA класса II. В некоторых воплощениях данные 2 или более чем 2 аллеля из вышеуказанных стадий (б) и (д) могут содержать аллели HLA HLA A, HLA B, DRB1 и DQB1.

В некоторых воплощениях первый пул доноров, используемый в настоящем

раскрытии, может содержать по меньшей мере 10 доноров. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов, предоставленная в настоящем раскрытии, может содержать по меньшей мере 100 пациентов. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать полную мировую аллогенную популяцию HSCT. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать полную аллогенную популяцию HSCT США. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать всех пациентов, включенных в базу данных Национальной программы доноров костного мозга (NMDP), доступную по адресу в Интернете: bioinformatics.bethematchclinical.org. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать всех пациентов, включенных в базу данных Европейского сообщества по трансплантации клеток крови и костного мозга (EBMT), доступную по адресу в Интернете: ebmt.org/ebmt-patient-registry. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать детей в возрасте 5 лет или младше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать детей в возрасте 5 лет или младше.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы идентификации подходящих доноров для применения в конструировании донорского банка, составленного из совокупности минибанков линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях конструирование донорского банка может включать первоначальную разработку первого минибанка, как здесь описано. В некоторых воплощениях разработка первого минибанка может включать осуществление всех из вышеуказанных стадий (a)-(e). В некоторых воплощениях разработка первого минибанка для донорского банка, как здесь описано, может включать повторение вышеуказанных стадий (a)-(e), которое включает один или более чем один второй цикл для конструирования одного или более чем одного второго минибанка.

В некоторых воплощениях перед началом каждого второго цикла

конструирования банка может быть включено создание нового пула доноров. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров, как здесь описано, может включать первый пул доноров за вычетом любых доноров с наибольшим соответствием, удаленных согласно каждому предыдущему циклу вышеуказанной стадии (г) из первого и любых предыдущих вторых раундов. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров, как здесь описано, может содержать полностью новую популяцию потенциальных доноров, не включенную в первый пул доноров. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров, как здесь описано, может содержать комбинацию первого пула доноров, за вычетом любых доноров с наибольшим соответствием, удаленных согласно каждому предыдущему циклу вышеуказанной стадии (г) из первого и любых предыдущих вторых раундов, и полностью новой популяции потенциальных доноров, не включенных в первый пул доноров. В некоторых воплощениях конструирование банка, как описано в настоящем способе, может включать восстановление первого множества перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов путем возвращения всех перспективных пациентов, которые были ранее удалены согласно каждому предшествующему циклу вышеуказанной стадии (д) из первого и любого предшествующего второго циклов данного способа.

В некоторых воплощениях каждый цикл конструирования одного или более чем одного минибанка, как здесь описано, может включать циклический повтор идентифицированных выше стадий (а)-(д) согласно идентифицированной выше стадии (е), пока в совокупности перспективных пациентов не останется 5% или менее первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях каждый донорский минибанк может содержать достаточную вариабельность HLA среди одного или более чем одного донора с наибольшим соответствием с обеспечением более чем 95% первой популяции перспективных пациентов по меньшей мере одной линией антигенспецифических Т-клеток, которая соответствуют типу HLA пациента по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В некоторых воплощениях каждый образующийся донорский минибанк может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, имеющие происхождение от 10 или менее чем 10 доноров. В некоторых воплощениях каждый образующийся донорский минибанк может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, имеющие происхождение от 5 или менее чем 5 доноров. В некоторых воплощениях указанные 2 или более чем 2 аллеля из

вышеуказанных стадий (б) и (д) могут содержать по меньшей мере 2 аллеля HLA класса II. В других воплощениях указанные 2 или более чем 2 аллеля из вышеуказанных стадий (б) и (д) могут содержать по меньшей мере 1 аллель HLA класса I и по меньшей мере 1 аллель HLA класса II.

В некоторых воплощениях первый пул доноров, используемый для конструирования донорского банка, может содержать по меньшей мере 10 доноров. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов, используемая для конструирования донорского банка, может содержать по меньшей мере 100 пациентов. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать полную мировую аллогенную популяцию HSCT. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать полную аллогенную популяцию HSCT США. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать всех пациентов, включенных в базу данных Национальной программы доноров костного мозга (NMDP), доступную по адресу в Интернете: bioinformatics.bethematchclinical.org. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать всех пациентов, включенных в базу данных Европейского сообщества по трансплантации клеток крови и костного мозга (EBMT), доступную по адресу в Интернете: ebmt.org/ebmt-patient-registry. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать детей в возрасте 5 лет или младше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать детей в возрасте 5 лет или младше.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать отбор крови от каждого донора, включенного в донорский банк. В других воплощениях способы, как здесь описано, могут включать отобранную кровь от каждого донора, включенного в указанный донорский банк. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать отбор мононуклеарных клеток (MNC) от каждого

донора, включенного в донорский банк. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать отобранные MNC от каждого донора, включенного в указанный донорский банк. В некоторых воплощениях отбор MNC от каждого донора может включать выделение MNC или наличие выделенных MNC. В одном воплощении MNC содержат мононуклеарные клетки периферической крови (например, PBMC). В одном воплощении MNC содержат мононуклеарные клетки афереза крови. В некоторых воплощениях отбор MNC от каждого донора может включать выделение PBMC или наличие выделенных PBMC. В некоторых воплощениях выделение MNC может можно осуществлять посредством градиента в фиколле. В некоторых воплощениях выделение MNC можно осуществлять посредством градиента плотности. В других воплощениях отбор MNC, как здесь раскрыто, может включать культивирование клеток. В других воплощениях отбор MNC, как здесь раскрыто, может включать криоконсервирование клеток.

В некоторых воплощениях культивирование MNC или криоконсервирование MNC может включать приведение указанных клеток в контакт в культуре с одним или более чем одним антигеном при подходящих культуральных условиях для стимуляции и размножения антигенспецифических Т-клеток. В других воплощениях один или более чем один антиген, приведенный в контакт с клетками, может содержать один или более чем один вирусный антиген. В других воплощениях один или более чем один антиген, приведенный в контакт с клетками, может содержать один или более чем один опухоль-ассоциированный антиген. В некоторых воплощениях один или более чем один антиген, приведенный в контакт с клетками, может содержать комбинацию одного или более чем одного вирусного антигена и одного или более чем одного опухоль-ассоциированного антигена.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (а) сравнения типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (б) определения, на основе сравнения на стадии (а) способов, описанных в данном абзаце, первого донора с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях первый донор с наибольшим соответствием может быть определен как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2

соответствия аллелей с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (в) отбора первого донора с наибольшим соответствием для включения в первый донорский минибанк. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (г) удаления из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях стадия (г) способов, как здесь описано, может включать генерирование второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием.

В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (д) удаления из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях стадия (д), как описано в данном абзаце, может генерировать вторую совокупность перспективных пациентов, состоящую из каждого из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием.

В некоторых воплощениях способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток могут включать повторение стадий (а)-(д), как здесь раскрыто, один или более дополнительных раз со всеми донорами и перспективными пациентами, которые еще не были удалены в соответствии со стадиями (г) и (д), как здесь раскрыто. В некоторых воплощениях каждый раз при выборе дополнительного донора с наибольшим соответствием в соответствии со стадией (в) указанного донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров в соответствии со стадией (г). В некоторых воплощениях каждый раз при удалении последующего донора с наибольшим соответствием из соответствующего ему пула доноров каждый перспективный пациент, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с указанным последующим донором с наибольшим соответствием, удаляется из соответствующей ему совокупности перспективных пациентов в соответствии со стадией (д). В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут последовательно увеличивать число отобранных доноров с наибольшим соответствием в донорском минибанке на 1 после каждого цикла данного способа. В некоторых воплощениях способы, как здесь

описано, могут уменьшать число пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла данного способа согласно их соответствию HLA с выбранными донорами с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях стадии (а)-(д) для конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток можно повторять, пока не остается желательная процентная доля первой популяции перспективных пациентов в совокупности перспективных пациентов. В некоторых воплощениях стадии (а)-(д) для конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток можно повторять, пока в данном пуле доноров не останется доноров.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, включают стадию (ж) выделения MNC или наличие выделенных MNC из крови, полученной от каждого соответствующего донора, включенного в донорский минибанк. В некоторых воплощениях стадия (з) способов, как здесь описано, включает культивирование MNC, полученных от каждого соответствующего донора. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, включают стадию (и) приведения в контакт MNC в культуре с одним или более чем одним антигеном при подходящих культуральных условиях для стимуляции и размножения поликлональной популяции антигенспецифических Т-клеток из MNC каждого соответствующего донора. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, включают стадию (и) приведения в контакт MNC в культуре с одним или более чем одним эпитопом из одного или более чем одного антигена при подходящих культуральных условиях для стимуляции и размножения поликлональной популяции антигенспецифических Т-клеток из MNC каждого соответствующего донора. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, включают продуцирование совокупности линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях каждая из линий антигенспецифических Т-клеток может содержать поликлональную популяцию антигенспецифических Т-клеток, полученных из MNC каждого соответствующего донора. В некоторых воплощениях MNC стадий (ж)-(и), как здесь описано, могут представлять собой PBMC. В некоторых воплощениях стадия (й) данных способов может включать криоконсервирование указанной совокупности линий антигенспецифических Т-клеток.

В некоторых воплощениях способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, могут включать циклическое повторение стадий (а)-(д) в соответствии со стадией (е), пока в

совокупности перспективных пациентов не останется 5% или менее первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях каждый донорский минибанк может содержать достаточную вариабельность HLA среди одного или более чем одного донора с наибольшим соответствием с предоставлением более чем 95% первой популяции перспективных пациентов по меньшей мере одной линии антигенспецифических Т-клеток, которая соответствует типу HLA пациента по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В некоторых воплощениях каждый полученный в результате донорский минибанк может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 10 или менее чем 10 доноров. В некоторых воплощениях каждый полученный в результате донорский минибанк может содержать линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 5 или менее чем 5 доноров. В некоторых воплощениях 2 или более чем 2 аллеля со стадий (б)-(д) могут содержать по меньшей мере 2 аллеля HLA класса II. В других воплощениях 2 или более чем 2 аллеля со стадий (б)-(д) могут содержать по меньшей мере 1 аллель HLA класса I и по меньшей мере 1 аллель HLA класса II.

В некоторых воплощениях первый пул доноров, используемый в способах конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, может содержать по меньшей мере 10 доноров. В некоторых воплощениях первый пул доноров, используемый в способах конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, может содержать по меньшей мере 100 доноров. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать полную мировую аллогенную популяцию HSCT. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов, используемая в данных способах, может содержать полную аллогенную популяцию HSCT США. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать всех пациентов, включенных в базу данных Национальной программы доноров костного мозга (NMDP), доступную по адресу в Интернете: bioinformatics.bethematchclinical.org. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов может содержать всех пациентов, включенных в базу данных Европейского сообщества по трансплантации клеток крови и костного мозга (EBMT), доступную по адресу в Интернете: ebmt.org/ebmt-patient-registry. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция

HSCT США может включать детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях полная мировая аллогенная популяция HSCT может включать детей в возрасте 5 лет или младше. В некоторых воплощениях полная аллогенная популяция HSCT США может включать детей в возрасте 5 лет или младше.

В некоторых воплощениях культивирование MNC может осуществляться в сосуде, содержащем газопроницаемую культуральную поверхность. В одном воплощении указанный сосуд представляет собой инфузионный мешок с газопроницаемой частью. В одном воплощении указанный сосуд может представлять собой жесткий сосуд. В одном воплощении указанный сосуд может представлять собой биореактор GRex. В некоторых воплощениях культивирование PBMC для конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, можно осуществлять в присутствии одного или более чем одного цитокина. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL4. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL7. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL4 и IL7. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL4 и IL7, но не IL2.

Способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование MNC в присутствии одного или более чем одного антигена. В одном воплощении данные MNC могут представлять собой PBMC. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один антиген может находиться в виде цельного белка. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один антиген может находиться в виде смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть полной последовательности каждого антигена. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один антиген может находиться в виде комбинации формы цельного белка и формы смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть полной последовательности каждого антигена.

Способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование MNC в присутствии совокупности смесей пептидов. В одном воплощении MNC могут представлять собой

PBMC. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов из совокупности смесей пептидов содержит ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть полной последовательности каждого антигена.

В некоторых воплощениях каждый антиген для конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток может представлять собой опухоль-ассоциированный антиген. В некоторых воплощениях каждый антиген может представлять собой вирусный антиген. В некоторых воплощениях по меньшей мере один антиген для конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток может представлять собой вирусный антиген, и по меньшей мере один антиген может представлять собой опухоль-ассоциированный антиген.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование MNC от отобранных доноров в присутствии по меньшей мере 2 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 3 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 4 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 5 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 6 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 7 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 8 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 9 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 10 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 11 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 12 разных смесей пептидов. В некоторых

воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 13 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 14 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 15 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 16 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 17 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 18 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 19 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 20 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере более чем 20 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях указанные MNC могут представлять собой PBMC. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов может содержать ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть антигена. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов может содержать ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих полную последовательность антигена.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование MNC от отобранных доноров в присутствии совокупности смесей пептидов. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов может охватывать по меньшей мере один антиген, который отличается от антигена, охватываемого каждой другой смесью пептидов в совокупности смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20 разных антигенов может быть очхвачено данной совокупностью смесей пептидов. В некоторых воплощениях по

меньшей мере более чем 20 разных антигенов может быть очхвачено данной совокупностью смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере один антиген от по меньшей мере 2 разных вирусов может быть очхвачен данной совокупностью смесей пептидов.

В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, могут иметь происхождение от EBV (вирус Эпштейна-Барр). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от CMV (цитомегаловирус). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от аденовируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса BK. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса JC (Джона Каннингема). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HHV6 (герпесвирусы 6). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HHV8 (герпесвирусы 8). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HBV (вирус гепатита B). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от RSV (человеческий респираторно-синцитиальный вирус). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса гриппа. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса парагриппа. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от бокавируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от коронавируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от LCMV (вирус лимфоцитарного хориоменингита). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса паротита. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса кори. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от

человеческого метапневмовируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от парвовируса B. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от ротавируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса клеток Меркеля. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса простого герпеса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HPV (человеческий папилломавирус). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HIV (вирус иммунодефицита человека). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HTLV1 (человеческий вирус Т-клеточного лейкоза, типа 1). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса Западного Нила. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса Зика. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса Эбола. В некоторых воплощениях по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген из каждого из RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа и HMPV (человеческий мета-пневмовирус). В некоторых воплощениях антигены вируса гриппа, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой антигены NP1 вируса гриппа A. В некоторых воплощениях антигены вируса гриппа, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой антигены MP1 вируса гриппа A. В некоторых воплощениях антигены вируса гриппа, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой антигены NP1 и MP1 вируса гриппа A. В некоторых воплощениях антигены RSV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N RSV. В некоторых воплощениях антигены RSV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки F RSV. В некоторых воплощениях антигены RSV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N RSV и белки F RSV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки F hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV,

используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки M hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой комбинацию белков F hMPV, белков N hMPV, M2-1 hMPV и белков M hMPV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки M PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки HN PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки F PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой комбинацию белков M PIV, белков HN PIV, белков N PIV и белков F PIV.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC от отобранных доноров в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген NP1 вируса гриппа A и антиген MP1 вируса гриппа A. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N RSV и антиген F RSV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген F hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать

культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген HN PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген F PIV.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC от отобранных доноров в присутствии смесей пептидов, которые охватывают антиген от каждого EBV, CMV, аденовируса, BK и HHV6. В некоторых воплощениях по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген из EBV, по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген от CMV, по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген от аденовируса, по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген от BK, и по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген от HHV6. В некоторых воплощениях антигены EBV могут представлять собой LMP2. В некоторых воплощениях антигены EBV могут представлять собой EBNA1. В некоторых воплощениях антигены EBV могут представлять собой BZLF1. В некоторых воплощениях антигены EBV могут представлять собой комбинацию антигенов CMV. В некоторых воплощениях антигены CMV могут иметь происхождение из IE1. В некоторых воплощениях антигены CMV могут иметь происхождение из pp65. В некоторых воплощениях антигены CMV могут иметь происхождение из комбинации IE1 и pp65. В некоторых воплощениях антигены аденовируса могут иметь происхождение из Hexon. В некоторых воплощениях антигены аденовируса могут иметь происхождение из Penton. В некоторых воплощениях антигены аденовируса могут иметь происхождение из комбинации Hexon и Penton. В некоторых воплощениях антигены вируса BK могут иметь происхождение из VP1. В некоторых воплощениях антигены вируса BK могут иметь происхождение из большой T. В некоторых воплощениях антигены вируса BK могут иметь происхождение из комбинации VP1 и большой T. В некоторых воплощениях антигены HHV6 могут иметь происхождение из U90. В некоторых воплощениях антигены HHV6 могут иметь происхождение из U11. В некоторых воплощениях антигены HHV6 могут иметь происхождение из U14. В некоторых воплощениях антигены HHV6 могут иметь происхождение из комбинации U90, U11 и U14.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген LMP2 EBV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген EBNA1 EBV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген BZLF1 EBV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген IE1 CMV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген pp65 CMV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антигены Hexon аденовируса. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих Penton. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген VP1 вируса BK. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген большой T вируса BK. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген U90 HHV6. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген U11 HHV6. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген U14 HHV6.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC от отобранных доноров в присутствии смесей пептидов, которые охватывают антиген, имеющий происхождение из коронавируса. В некоторых воплощениях указанный коронавирус представляет собой β-коронавирус (β-CoV). В некоторых воплощениях указанный коронавирус представляет собой α-коронавирус

(α-CoV). В некоторых воплощениях указанный β-CoV выбран из SARS-CoV, MERS-CoV, HCoVHKUl и HCoV-OC43. В некоторых воплощениях указанный α-CoV выбран из HCoV-E229 и HCoV-NL63. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC с совокупностью библиотек смесей пептидов, причем каждая смесь пептидов содержит совокупность перекрывающихся пептидов, охватывающих весь антиген SARS-CoV2 или его часть, или антиген от одного или более чем одного дополнительного вируса. В некоторых воплощениях VST получают приведением в контакт Т-клеток с APC (антигенпрезентирующие клетки), такими как DC (дендритные клетки), примированные совокупностью библиотек смесей пептидов, причем каждая библиотека смесей пептидов содержит совокупность перекрывающихся пептидов, охватывающих весь вирусный антиген или его часть, где по меньшей мере одна из совокупности библиотек смесей пептидов охватывает первый антиген из SARS-CoV2, и где по меньшей мере одна (или часть одной) дополнительная библиотека смесей пептидов совокупности смесей пептидов охватывает каждый второй антиген. В некоторых воплощениях VST получают приведением в контакт Т-клеток с APC, такими как DC, нуклеофицированные по меньшей мере одной ДНК-плазмидой, кодирующей по меньшей мере один антиген SARS-CoV2 или его часть, и по меньшей мере одной ДНК-плазмидой, кодирующей каждый второй антиген или его часть. В некоторых воплощениях указанная плазмида кодирует по меньшей мере один антиген SARS-CoV2 или его часть и по меньшей мере один из дополнительных антигенов или его часть. В некоторых воплощениях VST содержат Т-лимфоциты CD4+ и Т-лимфоциты CD8+. В некоторых воплощениях VST экспрессируют рецепторы Т-клеток αβ. В некоторых воплощениях VST ограничены MHC. В некоторых воплощениях антиген SARS-CoV2 содержит один или более чем один антиген, выбранный из группы, состоящей из nsp 1; nsp3; nsp4; nsp5; nsp6; nsp7a, nsp8, nsp10; nsp12; nsp13; nsp14; nsp15 и nsp16. В некоторых воплощениях антиген SARS-CoV2 содержит один или более чем один антиген, выбранный из группы, состоящей из шипа (S); белка оболочки (E); белка матрикса (M) и белка нуклеокапсида (N). В некоторых воплощениях антиген SARS-CoV2 содержит один или более чем один антиген, выбранный из группы, состоящей из SARS-CoV-2 (AP3A); SARS-CoV-2 (NSS); SARS-CoV-2 (ORFlO); SARS-CoV-2 (ORF9B) и SARS-CoV-2 (Yl4). В некоторых воплощениях способы, как здесь описано,

для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC от отобранных доноров в присутствии смесей пептидов, которые охватывают один или более чем один антиген SARS-CoV2 и один или более чем один дополнительный антиген, выбранный из группы, состоящей из антигена M PIV, антигена HN PIV, антигена N PIV, антигена F PIV, антигена NP1 вируса гриппа, антигена MP1 вируса гриппа, антигена N RSV, антигена F RSV, антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV, антигена N hMPV и антигена Hexon AdV, антигена Penton AdV и их комбинаций. В некоторых воплощениях указанный дополнительный антиген включает антиген M PIV, антиген HN PIV, антиген N PIV, антиген F PIV, антиген NP1 вируса гриппа, антиген MP1 вируса гриппа, антиген N RSV, антиген F RSV, антиген M hMPV, антиген M2-1 hMPV, антиген F hMPV, антиген N hMPV, антиген Hexon AdV, антиген Penton AdV и их комбинации.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC от отобранных доноров в присутствии смесей пептидов, которые охватывают антиген от вируса гепатита B (HBV). В некоторых воплощениях антиген HBV выбран из корового антигена HBV, поверхностного антигена HBV и каждого из корового антигена HBV и поверхностного антигена HBV.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток могут включать культивирование PBMC от отобранных доноров в присутствии смесей пептидов, которые охватывают антиген от герпесвируса-8 человека (HHV-8). В некоторых воплощениях антиген HHV-8 включает латентный антиген. В некоторых воплощениях антиген HHV-8 включает литический антиген. В некоторых воплощениях антиген HHV-8 выбран из следующих: LANA-1 (ORF3); LANA-2 (vIRF3, K10.5); vCYC (ORF72); RTA (ORF50); vFLIP (ORF71); капосин (ORF12, K12); gB (ORF8); MIR1 (K3); SSB (ORF6); TS (ORF70) и их комбинация.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, для конструирования донорских минибанков линий антигенспецифических Т-клеток (например, VST) включают культивирование линий антигенспецифических Т-клеток *ex vivo* в присутствии и IL-7, и IL-4. В некоторых воплощениях VST достаточно размножились в пределах 9-18 суток культивирования таким образом, что они готовы для введения

пациенту. В некоторых воплощениях смесь пептидов, как здесь описано, может содержать 15-мерные пептиды. В одном воплощении пептиды в смеси пептидов, которые охватывают указанный антиген, могут перекрываться в последовательности на 11 аминокислот. В некоторых воплощениях конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток может включать размножение указанных антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток может включать осуществление анализа антигенспецифических Т-клеток на антигенспецифическую цитотоксичность. В некоторых воплощениях минибанки линий антигенспецифических Т-клеток могут быть получены способами конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь раскрыто. В некоторых воплощениях минибанки линий антигенспецифических Т-клеток могут иметь происхождение от совокупности доноров, отобранных посредством способов, как здесь описано. В некоторых воплощениях банки линий антигенспецифических Т-клеток могут содержать совокупность минибанков, имеющих происхождение от совокупности доноров, отобранных посредством способов, как здесь описано.

В воплощениях две или более чем две линии клеток донорских минибанков, полученные, как описано, любыми предложенными здесь способами, могут быть объединены в пул с получением универсального продукта антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях две или более чем две линии клеток донорских минибанков, полученные, как здесь описано, можно использовать в качестве универсального продукта антигенспецифических Т-клеток, например посредством введения пациенту в одной сессии дозирования.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния посредством введения пациенту одной или более чем одной подходящей линии антигенспецифических Т-клеток из минибанка, как здесь описано (например, двух или более чем двух таких линий Т-клеток), и/или описанного здесь универсального продукта антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях единственным критерием для выбора линии антигенспецифических Т-клеток для введения пациенту является то, что указанный пациент имеет по меньшей мере два общих аллеля HLA с донором, из которого были выделены MNC, используемые в изготовлении линии антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях

пациенту может быть введен описанный здесь универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток без предшествующего типирования HLA и/или без принятия во внимание типа HLA данного пациента. В некоторых воплощениях за одну сессию дозирования пациенту можно вводить две или более чем две линии антигенспецифических Т-клеток, содержащиеся в описанном здесь минибанке, без предшествующего типирования HLA и/или без принятия во внимание типа HLA данного пациента. В некоторых конкретных воплощениях за одну сессию дозирования пациенту можно вводить все линии антигенспецифических Т-клеток, содержащиеся в описанном здесь минибанке, без предшествующего типирования HLA и/или без принятия во внимание типа HLA данного пациента. В некоторых воплощениях подвергавшееся лечению заболевание может представлять собой вирусную инфекцию или ассоциированное с вирусом заболевание. В некоторых воплощениях подвергавшееся лечению заболевание может представлять собой рак.

В некоторых воплощениях пациенты, которых лечат одной или более чем одной подходящей линией антигенспецифических Т-клеток из минибанка, как здесь описано (например, двумя или более чем двумя такими линиями Т-клеток) и/или универсальным продуктом антигенспецифических Т-клеток, могут иметь ослабленный иммунитет. В некоторых воплощениях указанные пациенты имеют ослабленный иммунитет из-за лечения, которое указанные пациенты получили для лечения указанного заболевания или состояния, или другого заболевания или состояния. В некоторых воплощениях указанные пациенты имеют ослабленный иммунитет в силу возраста. В одном воплощении пациенты имеют ослабленный иммунитет в силу юного возраста. В одном воплощении пациенты имеют ослабленный иммунитет в силу пожилого возраста. В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, может представлять собой иммунодефицит. В одном воплощении указанный иммунодефицит представляет собой первичный иммунодефицит. В некоторых воплощениях указанные пациенты нуждаются в трансплантационной терапии.

В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать стволовые клетки. В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать солидный орган. В некоторых воплощениях указанный солидный орган представляет собой почку. В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может

содержать костный мозг. В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать стволовые клетки, солидный орган и костный мозг. В некоторых воплощениях указанные способы включают введение пациенту первой линии антигенспецифических Т-клеток на стадии (ж), как описано в непосредственно предшествующем абзаце.

В некоторых воплощениях введение пациентам может осуществляться для лечения вирусной инфекции. В некоторых воплощениях введение пациентам может осуществляться для лечения опухоли. В некоторых воплощениях введение пациентам может осуществляться из-за первичного иммунодефицита перед трансплантацией. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток, где вторая линия антигенспецифических Т-клеток может быть отобрана из того же самого минибанка, что и первая линия антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях вторая линия антигенспецифических Т-клеток может быть отобрана из другого минибанка, чем минибанк, из которого получили первую линию антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях вторая линия антигенспецифических Т-клеток может быть отобрана посредством повторения способа отбора первой линии антигенспецифических Т-клеток из минибанка или из минибанка, содержащегося в банке, как здесь описано, со всеми остальными линиями антигенспецифических Т-клеток в донорском банке, отличными от первой линии антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях способы, как здесь описано, могут включать введение пациенту универсального продукта антигенспецифических Т-клеток, где указанный продукт содержит популяцию антигенспецифических Т-клеток, где указанная популяция антигенспецифических Т-клеток содержит по меньшей мере 2 линии клеток, где каждую линию клеток получают от отдельных доноров, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA. Указанные универсальные антигенспецифические Т-клетки можно получать посредством объединения линий клеток из одного или более чем одного донорского минибанка и/или можно вводить в виде индивидуальных антигенспецифических Т-клеток из донорского минибанка в одной сессии дозирования.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы конструирования донорского банка, составленного из совокупности минибанков линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанные способы могут

включать стадию А) осуществления стадий (а)-(й), изложенных в способе конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано. В некоторых воплощениях конструируют первый минибанк. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию Б) повторения стадий (а)-(й), изложенных в способе конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано. В некоторых воплощениях можно проводить один или более чем один второй раунд для конструирования одного или более чем одного второго минибанка. В некоторых воплощениях перед началом каждого второго раунда данного способа, как здесь описано, можно получать новый пул доноров. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров может содержать первый пул доноров, за исключением доноров с наибольшим соответствием, удаленных согласно каждому предшествующему циклу стадии (г) из первого и любого предшествующего второго циклов способа конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров может содержать полностью новую популяцию потенциальных доноров, не включенных в первый пул доноров. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров может содержать комбинацию нового пула доноров, содержащего первый пул доноров, за вычетом любых доноров с наибольшим соответствием, удаленных согласно каждому предыдущему циклу стадии (г) из первого и любого предыдущего вторых раундов способа конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, и полностью новую популяцию потенциальных доноров, не включенную в первый пул доноров.

В некоторых воплощениях указанные способы могут включать восстановление первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов посредством возвращения всех перспективных пациентов, которые были ранее удалены согласно каждому предшествущему циклу стадии (д), изложенной в способе конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, из первого и любого предшествующего второго раундов. В некоторых воплощениях стадии (ж)-(й), изложенные в способе конструирования первого донорского минибанка антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, возможно можно проводить после каждого раунда данного способа, или их можно проводить в любое время после стадии А), как описано в непосредственно

предшествующем абзаце.

В некоторых воплощениях культивирование MNC может осуществляться в сосуде, содержащем газопроницаемую культуральную поверхность. В одном воплощении указанный сосуд может представлять собой инфузионный мешок с газопроницаемой частью. В одном воплощении указанный сосуд может представлять собой жесткий сосуд. В одном воплощении указанный сосуд может представлять собой биореактор GRex (Wilson Wolf, St Paul, MN). В некоторых воплощениях культивирование MNC для конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, можно осуществлять в присутствии одного или более чем одного цитокина. В одном воплощении данные MNC могут представлять собой PBMC. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL4. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL7. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL4 и IL7. В одном воплощении указанный цитокин может включать IL4 и IL7, но не IL2.

В некоторых воплощениях указанный один или более чем один антиген может находиться в форме цельного белка. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один антиген может находиться в форме смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или всю последовательность каждого антигена. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один антиген может находиться в форме комбинации формы цельного белка и формы смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть полной последовательности каждого антигена. В некоторых воплощениях способы конструирования донорского банка, составленного из совокупности минибанков линий антигенспецифических Т-клеток, могут включать культивирование MNC в присутствии совокупности смесей пептидов. В одном воплощении MNC могут представлять собой PBMC. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов из совокупности смесей пептидов может содержать ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть полной последовательности каждого антигена. Указанный антиген может быть презентирован на дендритной клетке. Указанный антиген может быть непосредственно приведен в контакт с MNC (например, PBMC) от донора, отобранного посредством раскрытого здесь способа.

В других воплощениях каждый антиген, приведенный в контакт с клетками, может содержать опухоль-ассоциированный антиген. В других воплощениях каждый

антиген может представлять собой вирусный антиген. В некоторых воплощениях по меньшей мере один антиген, приводимый в контакт с клетками, может представлять собой вирусный антиген, и по меньшей мере один антиген, приводимый в контакт с клетками, может представлять собой опухоль-ассоциированный антиген.

В некоторых воплощениях способы конструирования донорского банка, составленного из совокупности минибанков линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 2 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 3 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 4 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 5 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 6 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 7 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 8 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 9 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 10 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 11 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 12 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 13 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 14 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 15 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере

16 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 17 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 18 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 19 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере 20 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии по меньшей мере более чем 20 разных смесей пептидов. В некоторых воплощениях данные MNC могут представлять собой PBMC. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов может содержать ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть антигена. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов может содержать ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих полную последовательность антигена.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC в присутствии совокупности смесей пептидов. В некоторых воплощениях каждая смесь пептидов может охватывать по меньшей мере один антиген, который отличается от антигена, охватываемого каждой другой смесью пептидов в указанной совокупности смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20 разных антигенов может быть охвачено данной совокупностью смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере более чем 20 разных антигенов может быть охвачено данной совокупностью смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере один антиген от по меньшей мере 2 разных вирусов может быть охвачен данной совокупностью смесей пептидов.

В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от EBV (вирус Эпштейна-Барр). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от CMV (цитомегаловирус). В некоторых воплощениях антигены,

используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от аденовируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса BK. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса JC (вирус Джона Каннингема). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HHV6 (герпесвирусы 6). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от RSV (человеческий респираторно-синцитиальный вирус). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса гриппа. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса парагриппа. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от бокавируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от коронавируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от SARS-CoV2. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от LCMV (вирус лимфоцитарного хориоменингита). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса паротита. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса кори. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от метапневмовируса человека. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от парвовируса B. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от ротавируса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса клеток Меркеля. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса простого герпеса. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HPV (человеческий папилломавирус). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HIV (вирус

иммунодефицита человека). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HTLV1 (вирус Т-клеточного лейкоза человека, тип 1). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от HHV8 (герпесвирусы 8). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса гепатита В (HBV). В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса Западного Нила. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса Зика. В некоторых воплощениях антигены, используемые в способах, как здесь описано, могут иметь происхождение от вируса Эбола.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одна смесь пептидов может охватывать антиген от каждого из RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа и HMPV (метапневмовирус человека). В некоторых воплощениях антигены вируса гриппа, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой антигены NP1 вируса гриппа А. В некоторых воплощениях антигены вируса гриппа, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой MP1 вируса гриппа А. В некоторых воплощениях антигены вируса гриппа, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой антигены NP1 вируса гриппа А и MP1 вируса гриппа А. В некоторых воплощениях антигены RSV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N RSV. В некоторых воплощениях антигены RSV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки F RSV. В некоторых воплощениях антигены RSV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N RSV и белки F RSV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки F hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки M hMPV. В некоторых воплощениях антигены hMPV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой комбинацию белков F hMPV,

белков N hMPV, M2-1 hMPV и белков M hMPV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки M PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки HN PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки N PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой белки F PIV. В некоторых воплощениях антигены PIV, используемые в смесях пептидов, как здесь описано, могут представлять собой комбинацию белков M PIV, белков HN PIV, белков N PIV и белков F PIV.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC или PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген NP1 вируса гриппа A и антиген MP1 вируса гриппа A. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N RSV и антиген F RSV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген F hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген HN PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген F PIV.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC или PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих

антиген NP1 вируса гриппа A и антиген MP1 вируса гриппа A. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N RSV и антиген F RSV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген F hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M hMPV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген M PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген HN PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген N PIV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген F PIV.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одна смесь пептидов, как здесь описано, может охватывать антиген из EBV, CMV, аденовируса, BK и HHV6. В некоторых воплощениях антиген EBV может представлять собой LMP2. В некоторых воплощениях антиген EBV может представлять собой EBNA1. В некоторых воплощениях антиген EBV может представлять собой BZLF1. В некоторых воплощениях антиген EBV может представлять собой LMP2, EBNA1 и BZLF1. В некоторых воплощениях антиген CMV может представлять собой IE1. В некоторых воплощениях антиген CMV может представлять собой pp65. В некоторых воплощениях антиген CMV может представлять собой IE1 и pp65.

В некоторых воплощениях антигены аденовируса могут представлять собой Hexon. В некоторых воплощениях антигены аденовируса могут представлять собой Penton. В некоторых воплощениях антигены аденовируса могут представлять собой Hexon и Penton. В некоторых воплощениях антигены вируса BK могут представлять собой VP1. В некоторых воплощениях антиген вируса BK может представлять собой

большой Т. В некоторых воплощениях антиген вируса BK может представлять собой VP1 и большой Т. В некоторых воплощениях антиген HHV6 может представлять собой U90. В некоторых воплощениях антиген HHV6 может представлять собой U11. В некоторых воплощениях антиген HHV6 может представлять собой U14. В некоторых воплощениях антиген HHV6 может представлять собой U90, U11 и U14.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC или PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген LMP2 EBV, антиген EBNA1 EBV и антиген BZLF1 EBV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген IE1 CMV и антиген pp65 CMV. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антигены Hexon аденовируса и антигены Penton аденовируса. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген VP1 и большой Т вируса BK. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген U90 HHV6, антиген U11 HHV6 и антиген U14 HHV6.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC или PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих коровый антиген HBV, поверхностный антиген HBV и каждый из корового антигена HBV и поверхностного антигена HBV.

В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, могут включать культивирование MNC или PBMC в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген HHV-8, выбранный из следующих: LANA-1 (ORF3); LANA-2 (vIRF3, K10.5); vCYC (ORF72); RTA (ORF50); vFLIP (ORF71); капосин (ORF12, K12); gB (ORF8); MIR1 (K3); SSB (ORF6); TS (ORF70) и их комбинация.

В некоторых воплощениях смесь пептидов, как здесь описано, может содержать 15-мерные пептиды. В одном воплощении пептиды в смеси пептидов, которые охватывают указанный антиген, могут перекрываться в последовательности на 11 аминокислот. В некоторых воплощениях конструирование первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток может включать размножение указанных антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях конструирование первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-

клеток может включать осуществление анализа антигенспецифических Т-клеток на антигенспецифическую цитотоксичность.

Согласно настоящему раскрытию предложены донорские минибанки, которые могут содержать совокупность минибанков линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях донорский банк может быть получен посредством способа конструирования донорского банка, составленного из совокупности минибанков линий антигенспецифических Т-клеток. Согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния, включающие введение пациенту одной или более чем одной подходящей линии антигенспецифических Т-клеток из донорского банка, как здесь описано.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния посредством введения пациенту одной или более чем одной подходящей линии антигенспецифических Т-клеток из донорского банка, как здесь описано (например, двух или более чем двух подходящих линий антигенспецифических Т-клеток) и/или описанного здесь универсального продукта антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях единственным критерием для введения линии антигенспецифических Т-клеток пациенту является то, что указанный пациент имеет по меньшей мере два общих аллеля HLA с донором, у которого были выделены MNC, используемые в изготовлении линии антигенспецифических Т-клеток. В одном воплощении данные MNC могут представлять собой PBMC. В некоторых воплощениях пациенту вводят описанный здесь универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток. В таких воплощениях данного пациента лечат без предшествующего типирования HLA и/или без принятия во внимание типа HLA пациента. В некоторых воплощениях заболевание, которое лечат, может представлять собой вирусную инфекцию. В некоторых воплощениях заболевание, которое лечат, может представлять собой рак. В некоторых воплощениях пациенты, которых лечат одной или более чем одной подходящей линией антигенспецифических Т-клеток из донорского банка, как здесь описано, могут иметь ослабленный иммунитет. В некоторых воплощениях пациенты, которых лечат описанным здесь универсальным продуктом антигенспецифических Т-клеток, могут иметь ослабленный иммунитет. В некоторых воплощениях указанные пациенты имеют ослабленный иммунитет из-за полученного указанными пацинтами лечения для лечения указанного заболевания или состояния, или другого заболевания или состояния. В некоторых воплощениях указанные

пациенты имеют ослабленный иммунитет в силу возраста. В одном воплощении пациенты имеют ослабленный иммунитет в силу юного возраста. В одном воплощении пациенты имеют ослабленный иммунитет в силу пожилого возраста. В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, может представлять собой иммунодефицит. В одном воплощении указанный иммунодефицит представляет собой первичный иммунодефицит. В некоторых воплощениях указанные пациенты нуждаются в трансплантационной терапии.

В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать стволовые клетки. В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать солидный орган. В некоторых воплощениях указанный солидный орган представляет собой почку. В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать костный мозг. В некоторых воплощениях трансплантированный материал, полученный пациентами, как здесь описано, может содержать стволовые клетки, солидный орган и костный мозг.

В некоторых воплощениях введение совокупности линий антигенспецифических Т-клеток и/или универсального продукта антигенспецифических Т-клеток не приводит к заболеванию «трансплантат против хозяина» (GVHD) или к усугублению предсуществующего GVHD. В некоторых воплощениях введение совокупности линий антигенспецифических Т-клеток и/или универсального продукта антигенспецифических Т-клеток может служить для лечения вирусной инфекции. В некоторых воплощениях введение совокупности линий антигенспецифических Т-клеток и/или универсального продукта антигенспецифических Т-клеток может служить для лечения опухоли. В некоторых воплощениях введение совокупности линий антигенспецифических Т-клеток и/или универсального продукта антигенспецифических Т-клеток может служить для лечения первичного иммунодефицита перед трансплантацией. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать введение пациенту первой и второй линии антигенспецифических Т-клеток в одной сессии дозирования. В некоторых воплощениях вторая линия антигенспецифических Т-клеток может быть отобрана из того же самого донорского банка, что и первая линия антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях вторая линия антигенспецифических Т-клеток может быть

отобрана из другого донорского минибанка, чем первая линия антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях вторую линию антигенспецифических Т-клеток можно вводить пациенту в той же самой сессии дозирования. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях совокупность линий антигенспецифических Т-клеток содержит все линии антигенспецифических Т-клеток в донорском минибанке. В некоторых воплощениях вторую линию антигенспецифических Т-клеток можно вводить пациенту в той же самой сессии дозирования.

В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять на основе виремического разрешения инфекции у пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять на основе разрешения инфекции у пациента, наблюдаемого по выделению вируса с мочой. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять на основе разрешения вирусной нагрузки в образце от пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять на основе виремического разрешения инфекции, разрешения инфекции, наблюдаемого по выделению вируса с мочой и разрешения вирусной нагрузки в образце от пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять после введения линии антигенспецифических Т-клеток.

В некоторых воплощениях образец можно отбирать из образца ткани от пациента. В некоторых воплощениях указанный образец может быть отобран из жидкого образца от пациента. В некоторых воплощениях указанный образец может быть отобран из цереброспинальной жидкости (CSF) от пациента. В некоторых воплощениях указанный образец может быть отобран из бронхоальвеолярного лаважа (BAL) от пациента. В некоторых воплощениях указанный образец может быть отобран из стула пациента. В некоторых воплощениях указанный образец может быть отобран из образца ткани, образца жидкости, CSF, BAL и стула от пациента.

В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять посредством отслеживания вирусной нагрузки, выявляемой в периферической крови пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения может включать разрешение макроскопической гематурии. В некоторых воплощениях эффективность лечения может включать уменьшение симптомов геморрагического цистита при измерении посредством CTCAE-PRO (общие терминологические критерии оценки нежелательных

явлений-PRO) или аналогичного средства оценки, которое оценивает пациента и/или докладываемые лечащим врачом результаты. В некоторых воплощениях эффективность лечения направлена против рака. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять на основе уменьшения размера опухоли после введения линии антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять посредством отслеживания маркеров тяжести заболевания. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять посредством отслеживания лизиса опухоли, выявляемого в периферической крови/сыворотке пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять посредством отслеживания маркеров тяжести заболевания и лизиса опухоли, выявляемого в периферической крови/сыворотке пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения можно измерять посредством отслеживания состояния опухоли посредством визуализирующих исследований. В других воплощениях эффективность лечения можно измерять посредством отслеживания комбинации маркеров тяжести заболевания, лизиса опухоли, выявляемого в периферической крови/сыворотке пациента, и состояния опухоли посредством визуализирующих исследований.

В некоторых воплощениях воспалительный ответ можно выявлять посредством наблюдения одного или более чем одного симптома или признака. В некоторых воплощениях один или более чем один симптом или признак может включать системные симптомы. В некоторых воплощениях указанные системные симптомы могут представлять собой лихорадку, озноб, головную боль, дискомфорт, слабость, тошноту, рвоту или боль в суставах. В некоторых воплощениях один или более чем один симптом или признак может включать сосудистые симптомы, включающие гипотензию. В некоторых воплощениях один или более чем один симптом или признак может включать сердечные симптомы. В одном воплощении сердечные симптомы представляют собой аритмию. В некоторых воплощениях один или более чем один симптом или признак может включать дыхательную недостаточность. В некоторых воплощениях один или более чем один симптом или признак может включать почечные симптомы. В одном воплощении указанный почечный симптом представляет собой почечную недостаточность. В одном воплощении указанный почечный симптом представляет собой уремию. В некоторых воплощениях один или более чем один симптом или признак может включать лабораторные симптомы. В одном воплощении данные лабораторные симптомы могут представлять собой коагулопатию и

гемофагоцитарный лимфогистиоцитозо-подобный синдром.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы идентификации подходящих доноров для применения в конструировании первого донорского минибанка антигенспецифических Т-клеток. Согласно настоящему раскрытию предложены способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (а) определения типа HLA или наличие определенного типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (б) определения типа HLA или наличие определенного типа HLA каждого из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (в) сравнения типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (г) определения, на основе сравнения на стадии (г), как описано в данном абзаце, первого донора с наибольшим соответствием, определенного как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов.

В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (д) отбора первого донора с наибольшим соответствием для включения в первый донорский минибанк. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (е) удаления из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием, с генерированием посредством этого второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (ж) удаления из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях стадия (ж) может включать получение второй совокупности перспективных пациентов, состоящей из каждого из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с

наибольшим соответствием.

В некоторых воплощениях указанные способы могут включать стадию (з) повторения стадий (в)-(ж) один или более дополнительных раз со всеми донорами и перспективными пациентами, которые еще не были удалены согласно стадиям (е) и (ж). В некоторых воплощениях каждый раз при отборе дополнительного донора с наибольшим соответствием в соответствии со стадией (д) указанного дополнительного донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров в соответствии со стадией (е). В некоторых воплощениях каждый раз при удалении последующего донора с наибольшим соответствием из соответствующего ему пула доноров каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с последующим донором с наибольшим соответствием, удаляют из соответствующей ему совкупности перспективных пациентов в соответствии со стадией (ж). В некоторых воплощениях стадия (з) последовательно увеличивает число отобранных доноров с наибольшим соответствием в первом донорском минибанке на 1 после каждого цикла указанного способа. В некоторых воплощениях стадия (з) может включать уменьшение числа пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла указанного способа согласно их соответствию HLA с отобранными донорами с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях стадии (в)-(ж) можно повторять, пока в совокупности перспективных пациентов не останется желательной процентной доли первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях стадии (в)-(ж) можно повторять, пока в пуле доноров не останется доноров.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложено введение пациенту универсального продукта антигенспецифических Т-клеток или одной или более чем одной подходящей линии антигенспецифических Т-клеток из донорского минибанка или донорского банка, сделанного из совокупности донорских минибанков, которые содержат совокупность вирусных антигенов, включающую по меньшей мере один первый антиген от вируса парагриппа типа 3 (PIV) и по меньшей мере один второй антиген от одного или более чем одного второго вируса. В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один второй антиген представляет собой респираторно-синцитиальный вирус (RSV). В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один второй антиген представляет собой вирус гриппа. В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один второй антиген представляет собой

метапневмовирус человека (hMPV).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

ФИГ. 1 представляет общий обзор способа отбора донорских банков для применения у пациента с трудно поддающейся лечению вирусной инфекцией. Сокращения: HLA – человеческий лейкоцитарный антиген. HSCT – трансплантат гематопоэтической стволовой клетки.

ФИГ. 2 представляет часть способа отбора доноров. Каждого донора сравнивают с популяцией пациентов для идентификации донора, который приспособлен к большинству пациентов, с линиями антигенспецифических Т-клеток на основе соответствия HLA с 2-аллельным минимальным порогом.

ФИГ. 3 представляет часть способа отбора доноров. Донора, который приспособлен к большинству пациентов, (1) включают в короткий список для получения линий антигенспецифических Т-клеток; (2) удаляют из общего пула доноров и (3) всех пациентов, к которым приспособлен указанный донор, удаляют из популяции пациентов.

ФИГ. 4 представляет часть способа отбора доноров. Повторяют ту же самую стадию, которая описана на ФИГ. 2, идентифицируя донора, который лучше всего охватывает остающихся пациентов, и затем удаляют и донора, и приспособленных пациентов из дальнейшего рассмотрения.

ФИГ. 5 представляет часть способа отбора доноров. Повторяют ту же самую стадию, которая описана на ФИГ. 3, идентифицируя донора, который лучше всего охватывает остающихся пациентов, и затем удаляют и донора, и приспособленных пациентов из дальнейшего рассмотрения.

ФИГ. 6 представляет часть способа отбора доноров. Повторяют ту же самую стадию, которая описана на ФИГ. 2, идентифицируя донора, который лучше всего охватывает остающихся пациентов, и затем удаляют и донора, и приспособленных пациентов из дальнейшего рассмотрения.

ФИГ. 7 представляет часть способа отбора доноров. Повторяют ту же самую стадию, которая описана на ФИГ. 3, идентифицируя донора, который лучше всего охватывает остающихся пациентов, и затем удаляют и донора, и приспособленных пациентов из дальнейшего рассмотрения.

ФИГ. 8 представляет часть способа отбора доноров. Повторяют ту же самую стадию, которая описана на ФИГ. 2, идентифицируя донора, который лучше всего

охватывает остающихся пациентов, и затем удаляют и донора, и приспособленных пациентов из дальнейшего рассмотрения.

ФИГ. 9 представляет часть способа отбора доноров. Повторяют ту же самую стадию, которая описана на ФИГ. 3, идентифицируя донора, который лучше всего охватывает остающихся пациентов, и затем удаляют и донора, и приспособленных пациентов из дальнейшего рассмотрения.

На **ФИГ. 10** показано получение минибанка (содержащего доноров 2, 3, 5 и 6), который охватывает по меньшей мере 95% пациентов (только пациенты m и k не соответствуют).

На **ФИГ. 11** показаны общие идеи изготовления линий антигенспецифических Т-клеток.

На **ФИГ. 12** показана блок-схема изготовления линий антигенспецифических Т-клеток.

На **ФИГ. 13** показана эффективность линий антигенспецифических Т-клеток против Adv, CMV, EBV, BKV и HHV6 при оценке с использованием анализа ELISPOT (метод иммуноферментных пятен) на IFN-γ (интерферон-гамма).

На **ФИГ. 14** показано определение порога эффективности для различения эффективных и неэффективных линий антигенспецифических Т-клеток против Adv, CMV, EBV, BKV и HHV6.

На **ФИГ. 15** показано связывание эффективности линий антигенспецифических Т-клеток с клинической пользой у 20 пациентов с BK-HC, которых успешно лечили эффективными линиями антигенспецифических Т-клеток. Отсутствие эффективности данных линий Т-клеток коррелирует с увеличением концентраций вируса BK у пациентов после лечения.

На **ФИГ. 16** показано связывание применения линий антигенспецифических Т-клеток, которые превышают порог эффективности, с клинической пользой против вируса BK, которое показывает общее снижение уровня вируса BK после лечения.

ФИГ. 17А-17Г. Характеристики полученных линий CMVST и степени соответствия с подвергнувшимися скринингу субъектами (**ФИГ. 17А**). Размножение Т-клеток CMVST, достигнутое на протяжении 20-суточного периода на основе подсчета клеток с использованием исключения трипанового синего. (n равно 8). (**ФИГ. 17Б**) Фенотип размноженных линий CMVST в сутки криоконсервирования (среднее

плюс/минус SEM (стандартная ошибка среднего), n равно 8) и (**ФИГ. 17В**) частота антигенспецифических Т-клеток при определении посредством анализа ELISpot на IFN-γ после стимуляции CMVST в течение ночи смесями пептидов, охватывающими антиген IE1 и pp65. Результаты приведены в виде клеток, образующих пятна (SFC) на 2×10^5 высаженных на чашку VST. Линии CMVST всего с большим или равным 30 SCF/2×10^5 считали позитивными. (n равно 8). (**ФИГ. 17Г**) число соответствующих антигенов HLA (всего из 8) линий CMVST, идентифицированных для клинического применения с HLA реципиентов – подвергавшихся скринингу пациентов (n равно 29).

ФИГ. 18. Результаты лечения у индивидуальных пациентов, инфицированных цитомегаловирусом (CMV). Иллюстрация вирусных нагрузок CMV в плазме (IU/мл) у пациентов за 2 недели до (уровень вирусной нагрузки, ближайший к неделе -2), непосредственно до (перед) и после (после) инфузии (недели 2, 4 и 6) CMVST. Стрелки указывают моменты времени инфузии.

ФИГ. 19А и 19Б. Частота CMV-специфических Т-клеток *in vivo*. (**ФИГ. 19А**) Частота CMVST в периферической крови до (перед) и после (после) инфузии при измерении посредством анализа ELISpot на IFN-γ после стимуляции в течение ночи смесями вирусных пептидов IE1 и pp65. Результаты выражаются в виде клеток, образующих пятна (SFC), на 5×10^5 клеток на входе (среднее плюс/минус SEM, n равно 10). (**ФИГ. 19Б**) Стойкость инфундированных CMVST у индивидуальных пациентов. Частота Т-клеток в периферической крови при измерении посредством анализа ELISpot на IFN-γ после стимуляции эпитопспецифическими пептидами CMV с ограничением по антигенам HLA, эксклюзивным для линии CMVST или общим между реципиентом и линией CMVST.

На **ФИГ. 20А-20Г** показан пример получения поликлональных мульти-R-VST от здоровых доноров. На (**ФИГ. 20А**) показана схема протокола получения мульти-R-VST. На (**ФИГ. 20Б**) показана кратность размножения, достигаемая за 10-13-суточный период, на основе подсчета клеток с использованием исключения трипанового синего (n равно 12). На (**ФИГ. 20В**) и (**ФИГ. 20Г**) показан фенотип размноженных клеток (среднее плюс/минус SEM, n равно 12).

На **ФИГ. 21** показано минимальное выявление регуляторных Т-клеток (Treg; CD4+CD25+FoxP3+) в пределах размноженных популяций Т-клеток CD4+ (среднее плюс/минус SEM, n равно 8).

На **ФИГ. 22А-22Г** показаны специфичность и обогащение мульти-R-VST. На (**ФИГ. 22А**) показана специфичность вирусореактивных Т-клеток в пределах размноженных линий Т-клеток после воздействия индивидуальных стимулирующих антигенов из каждого из целевых вирусов. Данные представлены в виде среднего плюс/минус SEM SFC/2×10^5 (n равно 12). На (**ФИГ. 22Б**) представлена кратность обогащения специфичности (PBMC относительно мульти-R-VST; n равно 12). На (**ФИГ. 22В**) показана продукция IFN-γ при оценке посредством ICS (внутриклеточное окрашивание клеток) от CD4 хелпера (наверху) и цитотоксических Т-клеток CD8 (внизу) после вирусной стимуляции у 1 репрезентативного донора (точечные графики с сортировкой по клеткам CD3+), тогда как на (**ФИГ. 22Г**) показаны обобщающие результаты для подвергавшихся скринингу 9 доноров (среднее плюс/минус SEM).

На **ФИГ. 23** показано число полученных от донора линий VST, отвечающих на индивидуальные стимулирующие агенты (вирус гриппа, RSV, hMPV и PIV).

На **ФИГ. 24** показана специфичность отвечающих на вирус Т-клеток в пределах линий размноженных Т-клеток после воздействия титрованных концентраций объединенных стимулирующих антигенов из каждого из целевых вирусов. Данные представлены как среднее плюс/минус SEM SFC/2×10^5 (n равно 7).

На **ФИГ. 25** показана частота CARV-специфических Т-клеток в периферической крови здоровых доноров после воздействия индивидуальных стимулирующих антигенов от каждого из целевых вирусов. Данные представлены как среднее плюс/минус SEM SFC/5×10^5 (n равно 12).

На **ФИГ. 26** показано, что предшественники, специфические в отношении CARV периферической крови, главным образом, выявляются в пределах CD4+ компартмента. Здесь показана частота CARV-специфических Т-клеток в магнитно сортированных популяциях Т-клеток CD4+ и CD8+, выделенных из периферической крови здоровых доноров после воздействия индивидуальных стимулирующих антигенов от каждого из целевых вирусов. Данные представлены как среднее плюс/минус SEM SFC/5×10^5 (n равно 4).

На **ФИГ. 27А-27Г** показано, что мульти-R-VST являются поликлональными и полифункциональными. На (**ФИГ. 27А**) показана двойная продукция IFN-γ и TNFα от Т-клеток CD3+ при оценке посредством ICS у 1 репрезентативного донора, тогда как на (**ФИГ. 27Б**) показаны обобщающие результаты от 9 подвергавшихся скринингу

доноров (среднее плюс/минус SEM). На (**ФИГ. 27В**) показан цитокиновый профиль мульти-R-VST при измерении посредством мультиплексного набора шариков. На (**ФИГ. 27Г**) оценивается продукция гранзима В посредством анализа Elispot. Результаты приведены как SFC/2×10^5 VST на входе (среднее плюс/минус SEM, n равно 9).

На **ФИГ. 28А** и **28Б** показано, что мульти-R-VST являются реактивными исключительно против мишеней, инфицированных вирусом. На (**ФИГ. 28А**) проиллюстрирован цитолитический потенциал мульти-R-VST, оцениваемый посредством стандартного 4-часового анализа высвобождения Cr51 с использованием аутологических бластных клеток PHA, подвергавшихся импульсному воздействию смеси пептидов, в качестве мишеней (E(эффектор):T(мишень) 40:1, n равно 8), с незагруженными бластными клетками PHA в качестве контроля. Результаты представлены в виде процентной доли специфического лизиса (среднее плюс/минус SEM). На (**ФИГ. 28Б**) продемонстрировано то, что мульти-R-VST не показывают активности либо против неинфицированных аутологических, либо против аллогенных бластных клеток PHA при оценке посредством анализа высвобождения Cr^{51}.

На **ФИГ. 29** показана цитотоксическая активность мульти-R-VST, оцениваемая посредством стандартного 4-часового анализа высвобождения Cr^{51} с использованием аутологических бластных клеток PHA, подвергавшихся импульсному воздействию смеси пептидов, в качестве мишеней (E:T 40:1, 20:1, 10:1, 5:1), с незагруженными бластными клетками PHA в качестве контроля. Результаты представлены в виде процентной доли специфического лизиса (среднее плюс/минус SEM, n равно 8).

На **ФИГ. 30А-30В** показано выявление RSV- и hMPV-специфических Т-клеток в периферической крови реципиентов HSCT. PBMC, выделенные от 2 реципиентов HSCT с 3 инфекциями, анализировали на специфичность против инфицирующих вирусов с использованием Elispot на IFN-γ в качестве показателя. На (**ФИГ. 30А**) и (**ФИГ. 30Б**) показаны результаты от 2 пациентов с ассоциированными с RSV URTI (инфекции верхних дыхательных путей), которые контролировали, сопутствующе с выявляемым повышением уровня эндогенных RSV-специфических Т-клеток, тогда как на (**ФИГ. 30В**) показан клиренс hMPV-LRTI с размножением эндогенных hMPV-специфических Т-клеток. ALC: абсолютное содержание лимфоцитов.

На **ФИГ. 31А-31В** показано выявление RSV- и PIV(также именуемых здесь PIV-

3)-специфических Т-клеток в периферической крови реципиентов HSCT. PBMC, выделенные от 3 реципиентов HSCT с 3 инфекциями, анализировали на специфичность против инфицирующих вирусов с использованием Elispot на IFN-γ в качестве показателя. На (**ФИГ. 31А**) и (**ФИГ. 31Б**) показаны результаты от 2 пациентов с ассоциированными с RSV и PIV URTI и LRTI, которые контролировали, сопутствующе с выявляемым повышением уровня эндогенных вирусоспецифических Т-клеток. На (**ФИГ. 31В**) показаны результаты от пациента с продолжающимся, связанным с PIV тяжелым URTI, который не мог формировать Т-клеточный ответ против вируса. ALC: абсолютное содержание лимфоцитов.

На **ФИГ. 32** показано соответствие HLA линий Viralym-M, идентифицированных в симуляции для клинического применения в исследовании POC с 54 перспективными пациентами.

На **ФИГ. 33** показано соответствие HLA линий Viralym-M, идентифицированных в симуляции для клинического применения при лечении всей популяции из более чем 650 пациентов с аллогенными HSCT в Центре Бейлора клеточной и генотерапии.

На **ФИГ. 34** показано отсутствие аллореактивности Т-клеток с мультивирусной специфичностью (клетки Viralym-M) при оценке посредством измерения их цитотоксической активности против мишеней, не соответствующих по HLA.

На **ФИГ. 35** показана связь между общим ответом и уровнем соответствия HLA. CR: полный ответ; PR: частичный ответ; NR: нереспондер.

На **ФИГ. 36** показана степень соответствия HLA по HLA класса I, II или и по классу I, и по классу II во всей популяции пациентов клинического испытания.

На **ФИГ. 37** показаны общие ответы в неделю 12 на основе аллелей, соответствующих по HLA (HLA класса I, II или как класса I, так и класса II).

На **ФИГ. 38** показана процентная доля пациентов с разрешившейся BK-HC через 2, 4 и 6 недель после получения VST по сравнению с 33 педиатрическими пациентами с аллогенными HSCT в естественной истории исследования (пациенты с естественной историей), которые имели BK-HC и получали просто стандартное лечение против их заболевания.

На **ФИГ. 39** показан средний балл цистита с течением времени у пациентов, которые получали VST либо в постановке с низким уровнем соответствия HLA (HLA 1-

2/6), либо в постановке с более высоким уровнем соответствия HLA (HLA 3-4/6).

ФИГ. 40 представляет собой схематическую иллюстрацию, сравнивающую предшествующий способ изготовления, внесения в банк и применения индивидуальных линий клеток доноров относительно нового способа получения и применения универсальной линии клеток донора.

На **ФИГ. 41** показана процентная доля аутореактивности UVST против донорских PHA и аллореактивности против бластных клетках PHA от неродственного донора.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Подробности настоящего изобретения излагаются ниже в сопровождающем описании. Хотя в осуществлении на практике или анализе настоящего изобретения и можно использовать способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным здесь способам и материалам, теперь описаны иллюстративные способы и материалы. Другие характеристики, задачи и преимущества настоящего изобретения будут очевидными из данного описания и из формулы изобретения. В описании изобретения и в приложенной формуле изобретения формы единственного числа также включают множественное, если контекст явно не диктует иное. Если не определено иначе, все использованные здесь технические и научные термины имеют такое же значение, которое обычно понятно обычному специалисту в области, к которой принадлежит настоящее изобретение. Все патенты и публикации, процитированные в данном описании изобретения включаются сюда посредством ссылки во всей их полноте.

Общие способы

В воплощении на практике настоящего изобретения, если не указано иное, будут использоваться традиционные методики культивирования клеток, молекулярной биологии (включая методики генной инженерии), микробиологии, клеточной биологии, биохимии и иммунологии, которые находятся в пределах квалификации в данной области. Такие методики полностью объясняются в литературе, как, например, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, третье издание (Sambrook et al., 2001) Cold Spring Harbor Press; *Oligonucleotide Synthesis* (P. Herdewijn, ed., 2004); Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987); *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.); *Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir & C. C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M. Miller & M. P. Calos, eds., 1987); *Current Protocols in*

Molecular Biology (F. M. Ausubel et al., eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan et al., eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999); *Manual of Clinical Laboratory Immunology* (B. Detrick, N. R. Rose, and J. D. Folds eds., 2006); *Immunochemical Protocols* (J. Pound, ed., 2003); *Lab Manual in Biochemistry: Immunology and Biotechnology* (A. Nigam and A. Ayyagari, eds. 2007); *Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques* (Ivan Lefkovits, ed., 1996); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane, eds.,1988) и другие.

Определения

Если не определено иначе, все использованные здесь технические и научные термины имеют такое же значение, которое обычно понятно обычным специалистам в области, к которой принадлежит настоящее изобретение. Хотя в воплощении на практике или анализе настоящего изобретения и можно использовать любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным здесь способам и материалам, описаны предпочтительные способы и материалы. Для задач настоящего изобретения ниже определены следующие термины.

Применение слова в единственном числе в том виде, как оно здесь используется, при применении в сочетании с термином «содержащий» в формуле и/или в описании изобретения может означать «один», но оно также согласуется со значением «один или более», «по меньшей мере один» и «один или более чем один». В качестве примера «элемент» означает один элемент или более чем один элемент. Некоторые воплощения настоящего изобретения могут состоять или по существу состоят из одного или более чем одного элемента, стадии способа и/или способов по изобретению. Рассматривается то, что любой описанный здесь способ или композицию можно осуществлять в отношении любого другого описанного здесь способа или композиции.

Термин «приблизительно», когда он непосредственно предшествует числовому значению, означает от плюс/минус 0% до 10% от данного числового значения, от плюс/минус 0% до 10%, от плюс/минус 0% до 9%, от плюс/минус 0% до 8%, от плюс/минус 0% до 7%, от плюс/минус 0% до 6%, от плюс/минус 0% до 5%, от плюс/минус 0% до 4%, от плюс/минус 0% до 3%, от плюс/минус 0% до 2%, от плюс/минус 0% до 1%, от плюс/минус 0% до менее чем 1%, или любое другое значение или интервал значений в них. Например, «приблизительно 40» означает от плюс/минус 0% до 10% от 40 (т.е. от 36 до 44).

Термин «и/или» используется в данном раскрытии для обозначения либо «и», либо «или», если не указано иное.

Во всем данном описании изобретения, если контекст не требует иного, будет понятно, что слова «содержать», «содержит» и «содержащий» подразумевают включение указанных стадии или элемента, или группы стадий или элементов, но не исключение любой другой стадии или элемента, или группы стадий или элементов. Под фразой «состоящий из» подразумевается включающий и ограниченный, чтобы ни следовало после фразы «состоящий из». Таким образом, фраза «состоящий из» указывает на то, что перечисленные элементы требуются или являются обязательными, и что другие элементы не могут присутствовать. Под фразой «по существу состоящий из» подразумевается включающий любые элементы, перечисленные после данной фразы и ограниченные другими элементами, которые не мешают или не способствуют активности или действию, определенным в данном раскрытии для перечисленных элементов. Таким образом, фраза «по существу состоящий из» указывает на то, что перечисленные элементы требуются или являются обязательными, но что другие элементы являются возможными и могут или не могут присутствовать, в зависимости от того, влияют ли они или нет материально на активность или действие перечисленных элементов.

Термин «расстройство» используется в данном раскрытии для обозначения и используется взаимозаменяемо с терминами заболевание, состояние или болезнь, если не указано иное.

Термин «эффективное количество», при использовании в связи с терапевтическим агентом (например, раскрытыми здесь продуктом антигенспецифических Т-клеток или линией клеток), представляет собой эффективное количество для лечения или предупреждения заболевания или расстройства у субъекта, как здесь описано.

Термин «напр.» используется здесь для обозначения «например», и будет понятно, что он подразумевает включение указанных стадии или элемента, или группы стадий или элементов, но не исключение любой другой стадии или элемента, или группы стадий или элементов.

Под «возможный» или «возможно» подразумевается то, что описанное далее событие или обстоятельство может случаться или может не случаться, и что указанное описание включает случаи, где указанное событие или обстоятельство происходит, и

случаи, при которых оно не происходит.

Термин «опухоль-ассоциированный антиген» в том виде, как он здесь используется, относится к антигенному веществу, продуцируемому/экспрессируемому на опухолевых клетках, и которое запускает иммунный ответ у хозяина.

Типичные опухолевые антигены включают по меньшей мере следующие: карциноэмбриональный антиген (CEA) для раковых заболеваний кишечника; CA-125 для рака яичника; MUC-1 или эпителиальный опухолевый антиген (ETA), или CA15-3 для рака молочной железы; тирозиназа или ассоциированный с меланомой антиген (MAGE) для злокачественной меланомы; и ненормальные продукты ras, p53 для целого ряда типов опухолей; альфафетопротеин для гепатомы, рака яичника или яичка; бета-субъединица hCG для мужчин с раком яичка; простатоспецифический антиген для рака простаты; бета 2 микроглобулин для множественной миеломы и при некоторых лимфомах; CA19-9 для рака толстой кишки, желчного протока и поджелудочной железы; хромогранин A для рака легкого и простаты; TA90 для меланомы, сарком мягких тканей и рака молочной железы, толстой кишки и легкого. Примеры опухолевых антигенов известны в данной области, например в Cheever *et al.*, 2009, которая включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте.

Конкретные примеры опухолевых антигенов включают по меньшей мере, например, следующие: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α. WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутант Ras, gp 100, мутант p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

Термин «вирусный антиген» в том виде, как он здесь используется, относится к антигену, который является белком в природе и тесно ассоциирован с вирусной частицей. В конкретных воплощениях вирусный антиген представляет собой белок

оболочки.

Конкретные примеры вирусного антигена включают по меньшей мере вирус, выбранный из EBV, CMV, аденовируса, BK, вируса JC, HHV6, RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, LCMV, вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека, парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, вируса простого герпеса, HPV, HBV, HIV, HTLV1, HHV8, вируса Западного Нила, вируса Зика, вируса Эбола.

Термины «вирусоспецифические Т-клетки» или «VST», или «линии вирусоспецифических Т-клеток», или «линии клеток VST» используются здесь взаимозаменяемо для названия линий Т-клеток, например, как здесь описано, которые были размножены и/или изготовлены вне субъекта, и которые имеют специфичность и эффективность против интересующего вируса или вирусов. В некоторых воплощениях VST могут быть моноклональными или олигоклональными. В конкретных воплощениях VST являются поликлональными. Как здесь описано, в некоторых воплощениях вирусный антиген или несколько вирусных антигенов презентируются пиродным Т-клеткам или Т-клеткам памяти в мононуклеарных клетках периферической крови, и в ответ размножаются популяции природных Т-клеток CD4+ и/или CD8+ со специфичностью в отношении вирусного(ых) антигена(ов). Например, вирусоспецифическая Т-клетка в отношении EBV в образце PBMC, полученном от подходящего донора, может распознавать (связываться с) антиген EBV (например, пептидный эпитоп из антигена EBV, возможно презентированный MHC), и это может запускать размножение Т-клеток, специфических в отношении EBV. В другом примере вирусоспецифическая Т-клетка в отношении вируса BK в образце PBMC, полученном от подходящего донора, и вирусоспецифическая Т-клетка в отношении аденовируса в образце PBMC могут, соответственно, распознавать и связываться с антигеном вируса BK и аденовирусным антигеном (например, пептидным эпитопом из антигена вируса BK и аденовирусного антигена, соответственно, возможно презентированным MHC), и это может запускать размножение Т-клеток, специфических в отношении вируса BK и Т-клеток, специфических в отношении аденовируса.

Термин «продукт клеточной терапии» в том виде, как он здесь используется, относится к линии клеток, например, как здесь описано, размноженной и/или изготовленной вне субъекта. Например, термин «продукт клеточной терапии» охватывает линию клеток, продуцируемую в культуре. Указанная линия клеток может

содержать или по существу состоять из эффекторных клеток. Указанная линия клеток может содержать или по существу состоять из NK-клеток (природные киллеры). Указанная линия клеток может содержать или по существу состоять из Т-клеток. Например, термин «продукт клеточной терапии» охватывает линию антигенспецифических Т-клеток, продуцируемую в культуре. Такие линии антигенспецифических Т-клеток включают в некоторых случаях размноженные популяции Т-клеток памяти, размноженные популяции Т-клеток, продуцированных посредством стимулирования нативных Т-клеток, и размноженные популяции генетически модифицированных Т-клеток (например, Т-клеток с CAR и Т-клеток, экспрессирующих экзогенные белки, такие как химерные или рекомбинантные рецепторы Т-клеток, костимулирующие рецепторы и тому подобное). В частности, термин «продукт клеточной терапии» в некоторых воплощениях включает линию вирусоспецифических Т-клеток или линию опухолеспецифических Т-клеток (например, линию TAA-специфических Т-клеток). Указанная линия клеток может быть моноклональной или олигоклональной. В конкретных воплощениях указанная линия клеток является поликлональной. Такие линии поликлональных клеток содержат в некоторых воплощениях совокупность размноженных популяций клеток (например, антигенспецифических Т-клеток) с отличной антигенной специфичностью. Например, один неограничивающий пример линии клеток, охватываемой термином «продукт клеточной терапии» включает поликлональную популяцию вирусоспецифических Т-клеток, содержащую совокупность размноженных клональных популяций Т-клеток, по меньшей мере две из которых, соответственно, имеют специфичность в отношении разных вирусных антигенов. Такие антигенспецифические Т-клетки, подходящие для применения в композициях и способах по настоящему раскрытию, включающие поликлональные вирусоспецифические Т-клетки, могут быть получены согласно любому способу, известному в данной области, включая по меньшей мере любой способ, раскрытый в WO2011028531, WO2013119947, WO2017049291, WO2013/008147, PCT/US2020/046389 и PCT/US2020/024726, каждая из которых включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте.

Термин «донорский минибанк» в том виде, как он здесь используется, относится к совокупности продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецифических Т-клеток), имеющих происхождение от разных доноров, таким образом, что продукты клеточной терапии в пределах донорского минибанка совокупно обеспечивают

определенную процентную долю пациентов (например, более 70%, более 75%, более 80%, более 85%, более 90% или более 95%) в целевой популяции пациентов с по меньшей мере одним хорошо соответствующим продуктом клеточной терапии (например, линией антигенспецифических Т-клеток).

Например, в некоторых воплощениях описанные здесь донорские минибанки включают по меньшей мере один хорошо соответствующий продукт клеточной терапии (например, линию антигенспецифических Т-клеток) для по меньшей мере 95% целевой популяции пациентов (таких как, например, реципиенты трансплантации аллогенных гематопоэтических стволовых клеток или субъекты с ослабленным иммунитетом). Термин «донорский банк» в том виде, как он здесь используется, относится к совокупности донорских минибанков. В разных воплощениях полезно создавать несколько неизбыточных минибанков для включения в «донорский банк» для обеспечения доступности двух или более чем двух хорошо соответствующих продуктов клеточной терапии для каждого перспективного пациента. Клеточные банки могут быть криоконсервированными. Способы криоконсервирования известны в данной области и могут включать, например, хранение продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецфичных Т-клеток) при -70°С, например в жидком азоте с паровой фазой в области контролируемого доступа. Отдельные аликвоты продуктов клеточной терапии можно получать и хранить в контейнерах (например, флаконах) в многочисленных, проверенных дьюарах с жидким азотом. Контейнеры (например, флаконы) могут быть помечены уникальными идентификационными номерами, обеспечивающими извлечение.

Термины «пациент» или «субъект» в том виде, как они здесь используются, используются взаимозаменяемо для названия любого млекопитающего, включая человека, домашних и сельскохозяйственных животных, и животных для зоопарков, спорта и домашних любимцев, таких как собаки, лошади, кошки, крупный рогатый скот, овцы, свиньи, козы, кролики, морские свинки или приматы, не являющиеся человеком, такие как обезьяны, шимпанзе, бабуины или макаки-резус. Одним предпочтительным млекопитающим является человек, включая взрослых, детей и пожилых людей.

Термин «потенциальный донор» в том виде, как он здесь используется, относится к индивиду (например, здоровому индивиду) с серопозитивностью в

отношении антигена или антигенов, которые будут служить мишенями раскрытых здесь продуктов клеточной терапии (например, антигенспецифических Т-клеток). В некоторых воплощениях все потенциальные доноры, подходящие для включения в пулы доноров, подвергают предварительному скринингу и/или считают серопозитивными в отношении антигена(ов)-мишени(ей).

Термин «популяция целевых пациентов» используется в некоторых воплощениях для описания совокупности пациентов (или, взаимозаменяемо, «субъектов»), нуждающихся в описанном здесь продукте клеточной терапии (например, продукт антигенспецифических Т-клеток). В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю мировую популяцию с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю популяцию с аллогенными HSCT США. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всех пациентов, включенных в базу данных Национальной программы доноров костного мозга (NMDP), доступную по адресу в Интернете: bioinformatics.bethematchclinical.org. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всех пациентов, включенных в базу данных Европейского сообщества по трансплантации клеток крови и костного мозга (EBMT), доступную по адресу в Интернете: ebmt.org/ebmt-patient-registry. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю мировую популяцию детей в возрасте 16 лет или младше с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю популяцию детей США в возрасте 16 лет или младше с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю мировую популяцию детей в возрасте 5 лет или младше с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю популяцию детей США в возрасте 5 лет или младше с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю мировую популяцию индивидов в возрасте 65 лет или старше с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях указанный термин охватывает всю популяцию индивидов США в возрасте 65 лет или старше с аллогенными HSCT.

Термины «лечить», «осуществление лечения», «лечение» и тому подобные в том виде, как они здесь используются, если не указано иное, относятся к обращению, облегчению, ингибированию процесса или предупреждению заболевания, расстройства или состояния, к которому применяется такой термин, или одного или более чем одного симптома такого заболевания, расстройства или состояния, и он включает введение любых из описанных здесь композиций, фармацевтических композиций или

лекарственных форм для предупреждения начала симптомов или осложнений, или облегчения симптомов или осложнений, или устранения заболевания, состояния или расстройства. В некоторых случаях лечение является куративным или улучшающим состояние.

Ссылка здесь на термин «стороннее лицо» в некоторых воплощениях означает субъекта (например, пациента), который не является тем же самым, что и донор. Таким образом, например, ссылка на осуществление лечения субъекта «продуктом антигенспецифических Т-клеток стороннего лица» (например, продуктом VST стороннего лица) означает, что указанный продукт получают из ткани донора (например, PBMC, выделенных из крови донора), а субъект (например, пациент) не является тем же самым субъектом, что и донор. В разных воплощениях терапия аллогенными клетками (например, терапия аллогенными антигенспецифическими Т-клетками) представляет собой терапию клетками «стороннего лица».

Термин «предупреждать» или «предупреждение» по отношению к субъекту относится к защите субъекта от поражения заболеванием или расстройством. Предупреждение включает профилактическое лечение. Например, предупреждение может включать введение субъекту раскрытой здесь композиции перед поражением субъекта заболеванием, и указанное введение будет защищать субъекта от поражения заболеванием. Например, предупреждение включает способы предупреждения или осуществления контроля вирусной инфекции или повторной активации латентного вируса посредством профилактического введения предложеного здесь универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, например, в контексте постановки терапии аллогенными Т-клетками.

Термины «осуществление введения», «вводить», «введение» и тому подобные в том виде, как они здесь используются, относятся к любому способу переноса, доставки, введения или транспортировки терапевтического средства субъекту, нуждающемуся в лечении таким средством. Такие способы включают внутриглазное, пероральное, местное, внутривенное, внутрибрюшинное, внутримышечное, внутрикожное, интраназальное и подкожное введение, но не ограничиваются ими.

Термин «UVST» означает универсальные VST, как здесь предложено.

Термины «универсальная композиция антигенспецифических Т-клеток», «универсальный продукт клеточной терапии», «универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками» и тому подобные используются здесь

взаимозаменяемо и относятся к композиции клеточной терапии, которая содержит две или более чем две линии антигенспецифических Т-клеток, содержащие популяции антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, где указанные линии антигенспецифических Т-клеток имеют происхождение из донорского материала (например, MNC или PBMC), имеющего происхождение от по меньшей мере двух отдельных доноров. Универсальные продукты терапии антигенспецифическими Т-клетками и/или совокупность линий антигенспецифических Т-клеток могут находиться в виде композиции, содержащей каждую линию антигенспецифических Т-клеток, составляющую указанный продукт (т.е. две или более чем две линии антигенспецифических Т-клеток), или могут находиться в виде совокупности композиций индивидуальных линий антигенспецифических Т-клеток для введения в одной сессии дозирования. В воплощениях указанный универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками содержит совокупность индивидуальных линий антигенспецифических Т-клеток, полученных из подходящей популяции доноров. Подходящая популяция доноров может содержать совокупность разных доноров, в которой тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA, как здесь дополнительно описано. В некоторых воплощениях универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками (например, UVST) содержит совокупность линий клеток, присутствующих в описаном здесь донорском минибанке или описаном здесь донорском банке. В конкретных воплощениях универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками (например, UVST) содержит некоторые или все из линий клеток, присутствующих в описанном здесь донорском минибанке или описаном здесь донорском банке.

В разных воплощениях термин «хорошо соответствущий» используется здесь в связи с данным пациентом и данным продуктом клеточной терапии (например, линией антигенспецифических Т-клеток) для описания ситуации, когда пациент и продукт клеточной терапии имеют общее (т.е. соответствуют по) предварительно установленное пороговое число аллелей HLA. Например, в воплощениях продукт клеточной терапии хорошо соответствует пациенту, если указанный пациент и указанный продукт клеточной терапии соответствуют по меньшей мере по двум аллелям HLA.

Другие объекты, характеристики и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из следующего подробного описания. Однако следует понимать,

что указанное подробное описание и конкретные примеры, при указании конкретных воплощений настоящего изобретения, приведены лишь в качестве иллюстрации, так как разные изменения и модификации в пределах сущности и объема настоящего изобретения станут очевидными специалистам в данной области из данного подробного описания.

Следующее обсуждение направлено на разные воплощения настоящего изобретения. Подразумевается, что термин «изобретение» не относится к любому конкретному воплощению или иным образом ограничивает объем данного раскрытия. Хотя одно или более чем одно из данных воплощений и может быть предпочтитльным, раскрытые воплощения не следует интерпретировать или иным образом использовать как ограничивающие объем данного раскрытия, включая формулу изобретения. Кроме того, специалисту в данной области будет понятно, что следующее описание имеет широкое применение, и подразумевается, что обсуждение любого воплощения является лишь примером данного воплощения и не предназначено для намека на то, что объем данного раскрытия, включая формулу изобретения, ограничивается данным воплощением.

Обзор

Согласно настоящему раскрытию предложены универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток (например, универсальные композиции VST и универсальные продукты VST), и способы их получения и применения. Указанные универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток содержат популяции антигенспецифических Т-клеток, имеющие происхождение от совокупности разных доноров. В указанной совокупности разных доноров тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA. В одном аспекте указанные универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток включают Т-клетки от достаточного разнообразия доноров, имеющих разнообразие аллелей HLA, таким образом, что указанные композиции и продукты достигают высокой степени соответствия по всей популяции пациентов. В разных воплощениях совокупность разных доноров имеет достаточное разнообразие аллелей HLA (по отношению друг к другу) таким образом, что указанные композиции и продукты соответствуют большой процентной доле пациентов по всей популяции пациентов по меньшей мере по одному аллелю HLA (например, 95% или более чем 95% данной популяции пациентов); например, в конкретных аспектах такие

композиции и продукты соответствуют 95% или более чем 95% пациентов по всей популяции пациентов по меньшей мере по двум аллелям HLA. Таким образом, в аспектах совокупность разных аллелей HLA представлена в универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток таким образом, что указанные композиции и продукты можно универсально вводить реципиентам без необходимости в типировании HLA. Это отличается от традиционных композиций и продуктов антигенспецифических Т-клеток, которые вводят только пациентам с хорошим соответствием и, таким образом, требуют предшествующего типирования HLA пациента.

В аспектах настоящее раскрытие основывается на нескольких неожиданных клинических и доклинических наблюдениях. Во-первых, композиции частично соответствующих VST являются эффективными у пациентов, и в некоторых случаях полные или частичные ответы наблюдали, даже когда пациентов лечили продуктами с всего лишь одним соответствующим аллелем (ФИГ. 35). Таким образом, указанные предварительные данные поддерживают то, что продукт с низким соответствием обеспечивает терапевтическую пользу. Во-вторых, введение указанному пациенту двух или более чем двух линий клеток VST, полученных от доноров с отличными типами HLA, приводит к ответам на лечение (Таблица 7) с отсутствием или слабым острым заболеванием трансплантат против хозяина (aGVHD) к неделе 6 или хроническим GVHD (cGVHD) в пределах 1 года лечения (Таблица 8). Таким образом, указанные предварительные данные поддерживают то, что лечение многими продуктами VST клеток с отличными профилями HLA может быть безопасным и, по-видимому, не снижает терапевтический потенциал данных продуктов. В-третьих, представленные здесь данные *in vitro* демонстрируют, что индивидуальные линии VST клеток сохраняют эффективность после объединения в пул в универсальный продукт VST клеток (Таблицы 11 и 13) и не имеют аутореактивности или аллореактивности (ФИГ. 40-41). Таким образом, в совокупности эти данные поддерживают то, что раскрытые здесь универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток имеют большое преимущество над другими Т-клеточными продуктами; например, указанная универсальная композиция или продукт антигенспецифических Т-клеток можно вводить нуждающемуся в этом пациенту без необходимости типирования HLA пациента (хотя предшествующее типирование HLA и не исключает введения) и без необходимости отбора и/или генерации соответствующей по HLA линии антигенспецифических Т-клеток для введения пациенту или необходимости получать

аутологическую линию антигенспецифических Т-клеток для введения пациенту. Таким образом, предложенные здесь универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток и способы их применения обеспечивают быстрое лечение пациентов готовым продуктом, который можно вводить любому пациенту. Это может быть особенно полезным для лечения вирусных инфекций готовыми вирусоспецифическими Т-клетками в пандемической ситуации (такой как пандемия SARS-CoV2), так как указанное лечение можно вводить пациенту быстро без ожидания типирования HLA, которое может задерживать доступ к лечению на сутки или более. Таким образом, в воплощениях предложенные здесь универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток могут обеспечивать превосходную эффективность по сравнению с традиционными композициями антигенспецифических Т-клеток, включая большую скорость ответа Т-клеток, превосходную скорость и эффективность в отношении улучшения состояния при заболевании и/или улучшенной надежности пользы лечения.

В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток могут превосходить другие Т-клеточные продукты в том, что они обеспечивают лучшее покрытие аллелей HLA для конкретного пациента по сравнению с покрытием, получаемым использованием традиционного соответствия по HLA. Например, указанный универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток может включать совокупность линий антигенспецифических Т-клеток (например, линий VST клеток) от совокупности доноров, которые по меньшей мере частично соответствуют или хорошо соответствуют реципиенту, а в традиционной терапевтической парадигме пациенту вводилась бы только одна из этих хорошо соответствующих линий Т-клеток и была бы способна осуществлять лечение. Однако с предложенными здесь универсальными композициями и продуктами антигенспецифических Т-клеток указанный продукт будет включать не только лучше всего соответствущий доступный продукт антигенспецифических Т-клеток, но также вероятно будет включать одну или более чем одну дополнительную линию Т-клеток от многих разных доноров, которые могут менее оптимально соответствовать реципиенту, но которые, тем не менее, вероятно являются терапевтически активными на основе предложенных здесь результатов авторов изобретения. То есть предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, вероятно, содержат более чем один продукт в пределах данной композиции, который частично соответствует по

HLA с пациентом; и разные частично соответствующие по HLA продукты в пределах данной универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток могут соответствовать пациенту по разным аллелям. Таким образом, раскрытые здесь универсальные композиции и продукты антигенспецифических Т-клеток, вероятно, будут обеспечивать более широкую антигенспецифическую активность, чем продукт на основе одной Т-клетки. Таким образом, не будучи ограниченными предположениями, можно наблюдать аддитивный или синергический ответ. Кроме того, в воплощениях предложенные здесь композиции и способы являются полезными в том, что указанное превосходное покрытие достигается без необходимости в типировании HLA реципиента клеточного продукта. В воплощениях предложенные здесь универсальные продукты антигенспецифических Т-клеток соответствуют реципиенту по каждому аллелю.

В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат линии антигенспецифических Т-клеток от совокупности доноров, объединенные в пул в одну композицию. В воплощениях пациентам вводят объединенную в пул композицию. В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат индивидуальные линии антигенспецифических Т-клеток, причем каждая имеет происхождение от индивидуального донора, где указанные композиции вводят пациенту в одной сессии дозирования. Таким образом, указанные универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток можно вводить в виде объединенного в пул продукта с индивидуальными линиями клеток, смешанными вместе перед введением. В воплощениях указанные линии клеток могут быть объединены в пул перед замораживанием композиции, где данную объединенную в пул композицию подвергают оттаиванию перед введением пациенту; или могут быть объединены в пул и введены после криоконсервирования индивидуальных линий клеток (т.е. охлажденными до очень низкой температуры, типично приблизительно -80°C) и затем подвергуты оттаиванию. В качестве альтернативы, в воплощениях универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток могут быть объединены в пул и введены в виде объединенного продукта, который не подвергался стадии замораживания или оттаивания. В воплощениях композиции антигенспецифических Т-клеток можно вводить пациенту в виде индивидуальных введений индивидуальных линий Т-клеток,

одновременно или последовательно в одной сессии дозирования. Термин «сессия дозирования» в том виде, как он здесь используется, относится к сессии или посещению медицинского профессионала, вводящего данную композицию или композиции. В воплощениях одна сессия дозирования может охватывать несколько часов или суток. В воплощениях композиции, вводимые в одну сессию дозирования, вводят в пределах минут друг от друга или в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 или 18 часов друг от друга, или в пределах приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток. Например, в воплощениях сессии дозирования включают введения двух или более чем двух композиций индивидуальных линий клеток, где пациент не покидает помещение или место, где вводят указанные композиции, между дозами, и/или указанный пациент не подвергается анализам или оценкам, таким как оценки эффективности или долговечности клеток *in vivo*, отличным от мониторинга безопасности между дозами (в случае, если такой мониторинг назначен или требуется). В некоторых сессиях дозирования индивидуальные линии клеток объединяют в пул в то время, когда вводят композиции, например посредством смешивания содержимого индивидуальных флаконов перед отбором смешанной композиции в шприц для введения. В некоторых сессиях дозирования индивидуальные линии клеток объединяют в пул в шприце, например клетки отбирают в шприц из двух или более чем двух флаконов композиций индивидуальных линий клеток. В некоторых сессиях дозирования индивидуальной линии клеток вводят пациенту раздельно в одной сессии дозирования.

В воплощениях предложенные здесь продукты клеточной терапии содержат два или более чем два универсальных продукта антигенспецифических Т-клеток, объединенных в пул. В воплощениях предложенные здесь продукты клеточной терапии содержат универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток, в который добавляют одну или более чем одну дополнительную индивидуальную линию антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены способы персонализированного введения продуктов Т-клеточной терапии, где пациенту вводят универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток в комбинации с дополнительным универсальным продуктом антигенспецифических Т-клеток и/или в комбинации с одной или более чем одной дополнительной индивидуальной линией антигенспецифических Т-клеток таким образом, что пациент получает универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток, который является в высокой степени персонализированным относительно потребностей и/или

генетического профиля данного пациента. Например, в воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены способы, в которых известен тип HLA пациента, и в высокой степени персонализированный продукт антигенспецифических Т-клеток, который охватывает все или большинство аллелей HLA пациента, получают посредством объединения в пул или более чем двух универсальных продуктов антигенспецифических Т-клеток, двух или более чем двух индивидуальных линий антигенспецифических Т-клеток и/или одного или более чем одного универсального продукта антигенспецифических Т-клеток с одной или более чем одной индивидуальной линией антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения пациента в высокой степени персонализированным продуктом антигенспецифических Т-клеток, включающие введение пациенту двух или более чем двух индивидуальных линий антигенспецифических Т-клеток одновременно или последовательно в одной сессии дозирования.

В аспектах универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат патогенспецифические Т-клетки и/или опухолеспецифические (например, в отношении антигена опухоли или TAA) Т-клетки. В конкретных аспектах универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат вирусоспецифические Т-клетки и/или опухолеспецифические (например, в отношении антигена опухоли или TAA) Т-клетки. В воплощениях предложенные здесь универсальные терапии антигенспецифическими Т-клетками предстаялают собой универсальные композиции вирусоспецифических Т-клеток (UVST).

В воплощениях линии клеток, составляющие предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, являются моноклональными, олигоклональными и/или поликлональными. В воплощениях каждая из линий клеток в универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток представляет собой поликлональную линию клеток. В воплощениях указанная универсальная композиция антигенспецифических Т-клеток содержит одну или более чем одну моноклональную линию клеток в комбинации с одной или более чем одной олигоклональной линией клеток; одну или более чем одну моноклональную линию клеток в комбинации с одной или более чем одной поликлональной линией клеток; или одну или более чем одну олигоклональную линию клеток в комбинации с одной или более чем одной поликлональной линией клеток.

Доноры и типы HLA

В том виде, в котором здесь предложено, предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат популяцию антигенспецифических Т-клеток, содержащую совокупность линий антигенспецифических Т-клеток, полученную из совокупности разных доноров, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 аллелям HLA. В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток получают посредством объединения клеток в пул в донорском минибанке. В воплощениях совокупность разных доноров находится в популяции доноров из 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более доноров. В воплощениях совокупность разных доноров находится в популяции доноров из 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров. В воплощениях тип HLA каждого донора (например, в популяции доноров из 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров) отличается от по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или всех из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или всех из других доноров по меньшей мере по двум аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или всех из других доноров по меньшей мере по трем аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или всех из других доноров по меньшей мере по четырем аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или всех из других доноров по меньшей мере по

пяти аллелям HLA. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10 или всех из других доноров по 6 аллелям HLA.

В воплощениях тип HLA каждого донора (например, в популяции доноров из 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров) отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса I. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всех из других доноров по одному или более чем одному аллелю HLA класса I. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA-A, HLA-B и/или HLA-C. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всех из других доноров по одному или более чем одному аллелю HLA-A, HLA-B и/или HLA-C. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному HLA-A и по меньшей мере одному аллелю HLA-B. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всех из других доноров по меньшей мере по одному HLA-A и по меньшей мере одному аллелю HLA-B. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному HLA-A, по меньшей мере одному аллелю HLA-B и по меньшей мере одному аллелю HLA-C. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всех из других доноров по меньшей мере по одному HLA-A, по меньшей мере одному аллелю HLA-B и по меньшей мере одному аллелю HLA-C.

В воплощениях тип HLA каждого донора (например, в популяции доноров из 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров) отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса II. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всех из других доноров по меньшей мере по одному или более чем одному аллелю HLA класса II. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю DP, DQ и/или DR. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всех из других доноров по одному или более чем одному

аллелю DP, DQ и/или DR. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и/или HLA-DRB. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному из HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и/или HLA-DRB. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному из HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и/или HLA-DRB.

В воплощениях тип HLA каждого донора (например, в популяции доноров из 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров) отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA класса I и по меньшей мере одному аллелю HLA класса II. В воплощениях тип HLA каждого донора отличается от одного или более чем одного из других доноров по меньшей мере по двум аллелям HLA класса I и по меньшей мере двум аллелям HLA класса II. В воплощениях указанные доноры имеют по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-A, по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-B, по меньшей мере 2 разных аллеля DRB1 и/или по меньшей мере 2 разных аллеля DQB1.

Клетки, экспрессирующие экзогенные (трансгенные) молекулы

В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат Т-клетки, которые экспрессируют экзогенную молекулу. В воплощениях такие Т-клетки представляют собой UVST, как здесь описано. Экспрессия экзогенных молекул может быть достигнута любым числом подходящих способов, которые известны в данной области, включая электропорацию, нуклеофекцию, трансфекцию с применением липосом или хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; бомбардировку микрочастицами; липофекцию; транспозоны или транспозазы и инфекцию (например, где вектор представляет собой инфекционный агент, такой как вирус). В воплощениях указанная экзогенная молекула кодируется ДНК или РНК. В воплощениях указанная ДНК или РНК может представлять собой модифицированную ДНК или модифицированную РНК. В воплощениях указанная экзогенная молекула кодируется мРНК или полинуклеотидом, который может существовать в экспрессионной кассете или экспрессионном векторе (например, плазмиды, вирусные векторы, включающие вирусы (например, лентивирусы), аденовирусы, аденосателлитные вирусы или

космиды), и Т-клетки трансфицируют мРНК или вектором для достижения экспрессии экзогенной молекулы. В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат Т-клетки, которые были трансдуцированы ретровирусным или лентивирусным вектором, содержащим трансген, кодирующий экзогенную молекулу, где указанная экзогенная молекула представляет собой CAR, трансгенный TCR, рецептор NK-клетки или терапевтическое средство. В воплощениях указанная экзогенная молекула представляет собой CAR или TCR. В воплощениях указанная экзогенная молекула представляет собой CAR, содержащий антигенсвязывающий домен, специфический в отношении ракового антигена.

В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток используют в качестве носителей экзогенных молекул, где указанная композиция предоставлят безопасный носитель доставки для Т-клеточных терапий, который преимущественно содержит смесь линий клеток от совокупности разных доноров. В воплощениях такие универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток для применения в качестве носителей для экзогенных молекул представляют собой UVST. Указанные композиции антигенспецифических Т-клеток содержат смесь линий клеток от совокупности разных доноров таким образом, что некоторые клетки могут не соответствовать, тогда как некоторые частично соответствуют пациенту-реципиенту. Такая смесь разных линий клеток дает композицию, способную сохраняться у реципиента без необходимости дальнейшей модификации клеток для предупреждения быстрого отторжения при введении реципиенту. В воплощениях универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, которые были модифицированы для экспрессии экзогенной молекулы, содержат модифицированные Т-клетки, у которых отсутствует аллореактивность против клеток-хозяев, и они способны сохраняться у пациента. В воплощениях указанные композиции содержат модифицированные Т-клетки, которые сохраняются у пациента в течение достаточного периода времени для осуществления желательной функции, например нацеливания на раковые клетки и их устранения.

В воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, которые экспрессируют экзогенную молекулу, выполняют двойные функции. Например, в воплощениях первая функция представляет собой эффекторную активность в связи с экзогенной молекулой (например, противоопухолевая клеточная активность Т-клетки, экспрессирущей CAR,

специфический в отношении опухолевого антигена на опухолевой клетке); и вторая функция представляет собой эффекторную активность в связи со специфичностью природного Т-клеточного рецептора, экспрессируемого самими Т-клетками (например, в отношении совокупности опухолевых антигенов и/или совокупности вирусных антигенов). Например, в воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, в которых указанные Т-клетки были модифицированы для экспрессии CAR и имеют противоопухолевую активность посредством CAR, а также противовирусную активность для предупреждения или уменьшения вирусной инфекции или для предупреждения или лечения вирусных реактиваций или литических вирусных инфекций у пациента, получающего указанную терапию.

В других воплощениях предложенные здесь универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, которые экспрессируют экзогенную молекулу, не выполняют функцию в связи с конкретной антигенной специфичностью Т-клеток, но подходят в качестве безопасных носителей для экзогенных молекул, как предложено выше. В таких воплощениях указанные универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток могут транспортироваться в места воспаления, где указанные клетки будут выполнять эффекторную функцию.

В воплощениях Т-клетки предложенных здесь универсальных композиций антигенспецифических Т-клеток были модифицированы для экспрессии CAR. Термин «химерный рецептор антигена» («CAR») в том виде, как он здесь используется, относится к конструкции рекомбинантного полипептида, содержащей по меньшей мере внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и цитоплазматический домен. В воплощениях указанный цитоплазматический домен содержит внутриклеточный сигнальный домен. В воплощениях указанный внутриклеточный сигнальный домен содержит функциональный сигнальный домен, имеющий происхождение от стимулирующей молекулы (например, молекулы, которая предоставляет первичную(ые) последовательность(и) цитоплазматической сигнализации для регуляции или индуцирования первичной активации комплекса TCR стимулирующим способом). В воплощениях указанный внутриклеточный сигнальный домен дополнительно содержит костимулирующую молекулу. Например, в воплощениях указанный внутриклеточный сигнальный домен содержит первичный сигнальный домен (например, первичный сигнальный домен, содержащий мотив

активации на основе тирозина иммунорецептора (ITAM), такой как CD3-дзета) и возможно один или более чем один функциональный сигнальный домен, имеющий происхождение от по меньшей мере одной костимулирующей молекулы (CD27, ICOS и/или CD28). Типичные первичные сигнальные домены включают TCRζ, FcRγ, FcRβ, FcRε, CD3γ, CD3ζ, CD3ε, CD5, CD22, CD79a, CD79b и CD66d. Типичные костимулирующие молекулы включают CD27, CD28, CD8, 4-1 BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, молекулу MHC класса I, BTLA, TLR и B7-H3. Типичные костимулирующие лиганды, которые связываются с когнатной костимулирующей сигнальной молекулой на Т-клетке, включают CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, индуцибельный костимулирующий лиганд (ICOS-L), молекулу межклеточной адгезии (ICAM, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, M1CB, HVEM, рецептор лимфотоксина β, 3/TR6, ILT3, ILT4, агонист или антитело, которое связывается с TLR, и лиганд, который специфически связывается с B7-H3. Костимулирующий лиганд также охватывает, среди прочих, антитело, которое специфически связывается с костимулирующей молекулой, присутствующей на Т-клетке, такой как CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1), CD2, CD7, LTGHT, NKG2C, B7-H3, но не ограничиваясь ими, и лиганд, который специфически связывается с CD83.

В воплощениях Т-клетки предложенных здесь универсальных композиций антигенспецифических Т-клеток были модифицированы для экспрессии экзогенного TCR (например, αβ TCR или γδ TCR). В воплощениях Т-клетки предложенных здесь универсальных композиций антигенспецифических Т-клеток были модифицированы для экспрессии рецептора NK-клетки. Типичные рецепторы клеток NKT или NK включают NKG2D, NKp30, NKp44, NKp46, KIR2DS1, KIR2DS2/3, KIR2DL4, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DS1 и NKG2C. В воплощении экзогенные TCR или рецепторы NK-клетки, подобные CAR, включают внутриклеточный сигнальный домен, который запускает эффекторную функцию в клетке.

В воплощениях Т-клетки экспрессируют одно или более чем одно терапевтическое средство или молекулу, такую как один или более чем один провоспалительный цитокин и/или лиганд, или одно или более чем одно химиотерапевтическое средство. Например, в воплощениях Т-клетки были генетически

модифицированы для экспрессии одного или более чем одного из следующих: IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-l5, IL-15/IL-15RA, IL-18, IL-21, TNFα, IFNγ, химерный рецептор, химерный рецептор цитокина, метотрексат, аминоптерин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацила декарбазин, меклорэтамин, тиоепа хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU), митомицин C, ломустин (CCNU), 1-метилнитрозомочевина, циклотосфамид, мехлорэтамин, бусульфан, дибромманнит, стрептозотоцин, митомицин C, *цис*-дихлордиамин платина (II) (DDP), цисплатин, карбоплатин, цисплатин и карбоплатин (параплатин), даунорубицин, доксорубицин (адриамицин), деторубицин, карминомицин, идарубицин, эпирубицин, митоксантрон и бизантрен; антибиотики, включающие дактиномицин (актиномицин D), блеомицин, калихеамицин, митрамицин, антрамицин (AMC), алкалоид барвинка, винкристин, винбластин, паклитаксел (таксол), рицин, экзотоксин псевдомонады, гемцитабин, цитохалазин B, грамицидин D, бромистый этидий, эметин, этопозид, тенопозид, колхицин, дигидроксиантрациндион, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пуромицин, прокарбазин, гидроксимочевина, аспарагиназа, кортикостероиды или митотан (O,P'-(DDD)).

В воплощениях указанные экзогенные молекулы представляют собой одну(ин) или более малых молекул, ингибиторов киназы или ингибиторов элементов микроокружения опухоли. В воплощениях указанные экзогенные молекулы представляют собой один или более рецепторов, которые секвестрируют ингибирующие молекулы в месте опухоли.

В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены способы получения универсальных композиций антигенспецифических Т-клеток, в которых одна или более чем одна Т-клетка в указанной композиции экспрессирует экзогенную молекулу (например, терапевтическое средство, CAR, экзогенный TCR, NKT или рецептор NK-клетки). В воплощениях индивидуальные линии Т-клеток, полученные, как здесь описано, конструируют для экспрессии экзогенной молекулы. В других воплощениях указанные индивидуальные линии Т-клеток объединяют в пул, как здесь предложено, и указанный объединенный в пул клеточный продукт модифицируют для экспрессии экзогенной молекулы. В воплощениях указанные индивидуальные линии Т-клеток и/или объединенный в пул клеточный продукт анализируют для оценки процента экспрессии экзогенной молекулы перед применением указанных линий

клеток и/или объединенного в пул клеточного продукта в предложенном здесь способе лечения.

Донорские минибанки

Воплощения настоящего раскрытия включают донорские минибанки, содержащие совокупность продуктов клеточной терапии (например, линии антигенспецифических Т-клеток), и донорские банки, составленные из совокупности таких донорских минибанков, а также способы получения и применения таких донорских минибанков, донорских банков и продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецифических Т-клеток), содержащихся в них (одних или в комбинации в качестве универсальных продуктов клеточной терапии) для применения в адоптивной иммунотерапии для лечения заболеваний или расстройств.

В воплощениях предложенные здесь универсальные продукты антигенспецифических Т-клеток получают посредством объединения в пул некоторых или всех линий клеток донорского минибанка. Например, в воплощениях предложенные здесь универсальные продукты антигенспецифических Т-клеток получают посредством объединения в пул всех линий клеток в донорском минибанке. В воплощениях объединение в пул всех линий клеток в минибанке приводит к композиции, которая обеспечивает более 95% покрытия для популяции пациентов. В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложено объединение в пул поднабора линий клеток в минибанке и/или включение объединения в пул индивидуальных линий антигенспецифических Т-клеток, где указанная объединенная в пул композиция обеспечивает более 75%, более 80%, более 85%, более 90% или более 95% покрытия популяции пациентов. В воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены композиции, содержащие линии клеток в донорском минибанке.

В конкретных воплощениях настоящее раскрытие включает способы и алгоритмы с применением компьютера для осуществления идентификации и отбора подходяще разнообразного набора доноров (в показателях их типирования HLA) для применения в конструировании продуктов клеточной терапии (например, совокупностей линий антигенспецифических Т-клеток и универсальных продуктов антигенспецифических Т-клеток), содержащихся в донорских минибанках или полученных из них, для обеспечения того, что каждый донорский минибанк содержит по меньшей мере один хорошо соответствущий продукт клеточной терапии (например, линию антигенспецифических Т-клеток) для желательной процентной доли целевой

популяции. Как здесь обсуждается далее, процентная доля целевой популяции, которая будет хорошо соответствовать по меньшей мере одному продукту клеточной терапии (например, линии антигенспецифических Т-клеток) в данном минибанке представляет собой параметр, который может быть задан при конструировании данного минибанка и, на основе типов HLA целевой популяции и числа продуктов клеточной терапии, включен в донорский минибанк. В некоторых случаях каждый донорский минибанк содержит по меньшей мере один продукт клеточной терапии, хорошо соответствующий (например, линию антигенспецифических Т-клеток) по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,9% перспективных пациентов в целевой популяции, включая все интервалы и подинтервалы между ними. Таким образом, в некоторых воплощениях раскрытые здесь способы обеспечивают конструирование таких донорских минибанков с подходящим разнообразием доноров (в показателях их типирования HLA) для обеспечения того, что по меньшей мере один продукт клеточной терапии (например, линия антигенспецифических Т-клеток) в донорском минибанке будет соответствовать по меньшей мере по 2 аллелям HLA 95% или более чем 95% данной целевой популяции.

В конкретных воплощениях доноров, используемых в получении таких продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецифических Т-клеток), содержащихся в таком донорском минибанке, тщательно отбирают с использованием раскрытого здесь способа отбора доноров для обеспечения достаточного разнообразия HLA между донорами таким образом, что по меньшей мере 95% целевой популяции пациентов соответствует по двум или более чем двум аллелям HLA по меньшей мере одному продукту клеточной терапии в указанном минибанке (например, линии антигенспецифических Т-клеток). Указанное раскрытие частично основано на неожиданном открытии того, что клеточные терапии с частичным соответствием по HLA, как, например, линиями антигенспецифических Т-клеток (например, линиями VST клеток), являются и безопасными, и эффективными у сторонних лиц. В самом деле, как показано в Примерах 1-3, клинические испытания авторов настоящего изобретения продемонстрировали, что VST сторонних лиц являются безопасными и эффективными при введении субъекту, который соответствует всего лишь по одному аллелю HLA (см., например, ФИГ. 35-37).

Настоящее раскрытие включает донорские минибанки (и донорские банки, содержащие совокупность таких донорских минибанков), причем указанные донорские минибанки включают такие продукты клеточной терапии, полученные из образцов крови, отобранных от таких подходящих сторонних доноров крови, идентифицированных посредством раскрытых здесь способов отбора доноров, а также способы получения, введения и применения таких продуктов клеточной терапии (включая, например, продукты в виде линии антигенспецифических Т-клеток, например продукты VST) для лечения или предупреждения заболеваний или расстройств. Таким образом, в разных воплощениях такие донорские минибанки включают совокупность продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецифических Т-клеток), полученных из образцов (например, мононуклеарных клеток, таких как PBMC), полученных от доноров, тщательно отобранных с использованием раскрытого здесь способа отбора доноров, и их продукты клеточной терапии содержат достаточное разнообразие HLA друг от друга, таким образом, что по меньшей мере 95% целевой популяции пациентов соответствуют по двум или более чем двум аллелям HLA по меньшей мере одному продукту клеточной терапии в указанном минибанке (например, линии антигенспецифических Т-клеток).

В разных воплощениях один или более чем один продукт клеточной терапии, включенный в раскрытый здесь донорский минибанк, вводят хорошо соответствующему субъекту, нуждающемуся в такой терапии, на основе раскрытого здесь способа установления соответствия пациента. В некоторых воплощениях совокупность таких продуктов клеточной терапии, включенных в донорский минибанк, вводят хорошо соответствующему субъекту на основе раскрытого здесь способа установления соответствия пациента. В некоторых воплощениях совокупность таких продуктов клеточной терапии, включенных в донорский минибанк, вводят субъекту независимо от того, известен ли тип HLA указанного субъекта. Например, как дополнительно обсуждается ниже, в некоторых воплощениях указанному субъекту можно вводить каждый из продуктов клеточной терапии, включенный в донорский минибанк, который включает совокупность продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецифических Т-клеток), имеющих происхожение из образцов (например, PBMC), полученных от доноров, тщательно отобранных с использованием раскрытого здесь способа отбора доноров, и, следовательно, указанные продукты

клеточной терапии содержат достаточное разнообразие HLA по отношению друг к другу таким образом, что по меньшей мере 95% целевой популяции пациентов соответстует по двум или более чем двум аллелям HLA по меньшей мере одному продукту клеточной терапии в указанном минибанке (например, линии антигенспецифических Т-клеток). Этим способом указанный донорский минибанк служит в качестве универсального продукта клеточной терапии, который является совместимым (т.е. хорошо соответствущим) более 95% целевой популяции пациентов. Совокупность продуктов клеточной терапии, которые вводят субъекту совместно, можно вводить последовательно или одновременно. В некоторых воплощениях указанную совокупность продуктов клеточной терапии объединяют в пул и вводят субъекту в качестве одного универсального продукта клеточной терапии. Такой пул продуктов клеточной терапии (например, линий антигенспецифических Т-клеток), содержащихся в донорском минибанке, можно хранить в банке клеток (например, при криоконсервировании) для более позднего введения субъекту, нуждающемуся в этом.

В некоторых воплощениях доноры, используемые в конструировании раскрытых здесь донорских минибанков, подвергаются предварительному скринингу на серопозитивность, и/или данные доноры являются здоровыми. Согласно настоящему раскрытию предложено то, что указанные линии антигенспецифических Т-клеток перспективно получают и затем подвергают криоконсервированию таким образом, что они немедленно доступны в виде готового продукта с демонстрируемой иммунной активностью против инфицирующего вируса или многих вирусов.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложено то, что поликлональные VST могут быть получены без потребности в присутствии живых вирусов или методик генной инженерии в способе изготовления. В некоторых воплощениях популяции Т-клеток размножают и обогащают в отношении специфичности к вирусу с последующей потерей аллореакивных Т-клеток. Согласно настоящему раскрытию также предложено то, что донорские банки клеточной терапии (например, VST) и донорские минибанки в некоторых воплощениях могут быть сконструированы так, чтобы быть приспособленными к более чем 95% популяции пациентов с аллогенными HSCT (например, популяции пациентов США с аллогенными HSCT). Кроме того, донорские банки и донорские минибанки клеточной терапии (например, VST) являются достаточно соответствующими по HLA для того, чтобы опосредовать противовирусные эффекты против клеток, инфицированных вирусами.

Например, достаточное соответствие по HLA указывает на то, что соответствуют по меньшей мере 2 аллеля. В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложено то, что продукты клеточной терапии, например VST, только частично соответствуют донору стволовых клеток субъекта, и, в результате, ожидается, что такие продукты клеточной терапии (например, VST) циркулируют только до времени, пока стволовые клетки клеток донора полностью не заселят реципиента, где в указанный момент времени продукт клеточной терапии (например, VST) будет отторгнут восстановленной иммунной системой пациента.

В некоторых воплощениях VST циркулируют у реципиента в течение вплоть до 1 недели, 2 недель, 3 недель, 4 недель, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель, 13 недель, 14 недель, 15 недель, 16 недель, 17 недель, 18 недель, включая все интервалы и подинтервалы между ними. В одном воплощении VST циркулируют у реципиента в течение вплоть до 12 недель.

В некоторых воплощениях способы идентификации подходящих доноров для применения в конструировании первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано, включают стадию (а) сравнения типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях осуществляют определение, на основе сравнения на стадии (а), как здесь описано, первого донора с наибольшим соответствием, определенного как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей HLA с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов (**ФИГ. 2**). В некоторых воплощениях донора, который приспособлен к большинству пациентов (1) включают в короткий список для продукции линии антигенспецифических Т-клеток, (2) удаляют из общего пула доноров и (3) всех пациентов, к которым приспособлен указанный донор, удаляют из популяции пациентов (**ФИГ. 3**). В некоторых воплощениях первого донора с наибольшим соответствием отбирают из первого донорского минибанка. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано, включают (г) удаление из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием, с получением, посредством этого, второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях способы, как здесь описано,

включают (д) удаление из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием, с получением, посредством этого, второй совокупности перспективных пациентов, состоящей из каждой из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием.

В некоторых воплощениях первый донорский минибанк содержит линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, 2 или менее доноров, и имеют достаточную вариабельность HLA для обеспечения более чем 95% первой популяции перспективных пациентов одной или более чем одной линией антигенспецифических Т-клеток, которая соответствует типу HLA пациента по меньшей мере по 2 аллелям HLA. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк содержит линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 10 или менее чем 10 доноров. В некоторых воплощениях первый донорский минибанк содержит линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от 5 или менее чем 5 доноров.

В некоторых воплощениях, как показано на **ФИГ. 4 – ФИГ. 10**, настоящие способы включают стадию (е), в которой повторяют стадии (а)-(д), как здесь описано, по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь, по меньшей мере девять, по меньшей мере десять раз или более раз со всеми донорами и перспективными пациентами, которые еще не были удалены в соответствии со стадиями (г) и (д). В некоторых воплощениях стадии (а)-(д) повторяют, пока в совокупности перспективных пациентов не остается желательная процентная доля первой популяции перспективных пациентов, или пока в пуле доноров не останется доноров. В некоторых воплощениях стадии (а)-(д), как здесь описано, циклически повторяют в соответствии со стадией (е), пока в совокупности перспективных пациентов не остается 5% или менее первой популяции перспекивных пациентов. Как показано на **ФИГ. 11**, создание первого донорского минибанка завершается, когда отобранные доноры могут представлять по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере

99%, по меньшей мере 99,9% перспективных пациентов, включая все интервалы и подинтервалы между ними.

В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов содержит по меньшей мере 95, по меньшей мере 97, по меньшей мере 99, по меньшей мере 100, по меньшей мере 105, по меньшей мере 110, по меньшей мере 115, по меньшей мере 120 пациентов. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов содержит по меньшей мере 100 пациентов.

В некоторых воплощениях каждый раз при отборе дополнительного донора с наибольшим соответствием в соответствии со стадией (в), как здесь описано, указанного дополнительного донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров в соответствии со стадией (г). В некоторых воплощениях каждый раз при удалении последующего донора с наибольшим соответствием из соответствующего ему пула доноров каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с указанным последующим донором с наибольшим соответствием, удаляют из соответствующей ему совокупности перспективных пациентов в соответствии со стадией (д).

В некоторых воплощениях повторение стадий (а)-(д), как здесь описано, последовательно увеличивает число отобранных доноров с наибольшим соответствием в первом донорском минибанке на 1 после каждого цикла указанного способа и, посредством этого, уменьшается число пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла указанного способа согласно их соответствию по HLA отобранным донорам с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях создание первого донорского минибанка завершается, когда отобранные популяции доноров могут охватывать по меньшей мере 95% пациентов. В некоторых воплощениях для обеспечения того, что каждый пациент имеет возможности многих линий антигенспецифических Т-клеток, можно сконструировать дополнительные минибанки с использованием такой же стратегии, как здесь описано.

В некоторых воплощениях 2 или более чем 2 аллеля включают по меньшей мере 2 аллеля HLA класса I. В некоторых воплощениях 2 или более чем 2 аллеля включают по меньшей мере 2 аллеля HLA класса II. В некоторых воплощениях 2 или более чем 2 аллеля включают по меньшей мере 1 аллель HLA класса I и по меньшей мере 1 аллель HLA класса II.

В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов

содержит всю мировую популяцию с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов содержит всю популяцию США с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов содержит всех пациентов, включенных в базу данных Национальной программы доноров костного мозга (NMDP), доступную по адресу в Интернете: bioinformatics.bethematchclinical.org. В некоторых воплощениях первая популяция перспективных пациентов содержит всех пациентов, включенных в базу данных Европейского сообщества по трансплантации клеток крови и костного мозга (EBMT), доступную по адресу в Интернете: ebmt.org/ebmt-patient-registry. В некоторых воплощениях вся популяция США с аллогенными HSCT может быть определена с использованием заменителя, где размер выборки указанного заменителя является достаточно большим и также репрезентативным для популяции США с аллогенными HSCT. В качестве примеров 666 реципиентов аллогенных HSCT в Baylor College of Medicine (Хьюстон, TX) были бы подходящим заменителем всей популяции США с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях вся мировая популяция с аллогенными HSCT может быть определена с использованием заменителя, где размер выборки указанного заменителя является достаточно большим и также репрезентативным для мировой популяции с аллогенными HSCT. В некоторых воплощениях вся мировая популяция с аллогенными HSCT содержит детей в возрасте 3 или менее, 4 или менее, 5 или менее, 6 или менее, 7 или менее, 8 или менее, 9 или менее, 10 или менее, 11 или менее, 12 или менее, 13 или менее, 14 или менее, 15 или менее, 16 или менее, 17 или менее лет. В некоторых воплощениях вся мировая популяция с аллогенными HSCT содержит детей в возрасте 5 лет или младше. В некоторых воплощениях вся мировая популяция с аллогенными HSCT содержит детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях вся мировая популяция с аллогенными HSCT содержит индивидов в возрасте 65 или более, 70 или более, 75 или более, 80 или более, 85 или более, 90 или более лет. В некоторых воплощениях вся мировая популяция с аллогенными HSCT содержит индивидов в возрасте 65 лет или старше. В некоторых воплощениях вся популяция США с аллогенными HSCT содержит детей в возрасте 3 или менее, 4 или менее, 5 или менее, 6 или менее, 7 или менее, 8 или менее, 9 или менее, 10 или менее, 11 или менее, 12 или менее, 13 или менее, 14 или менее, 15 или менее, 16 или менее, 17 или менее лет. В некоторых воплощениях вся популяция США с аллогенными HSCT содержит детей в возрасте 5 лет или младше. В некоторых

воплощениях вся популяция США с аллогенными HSCT содержит детей в возрасте 16 лет или младше. В некоторых воплощениях вся популяция США с аллогенными HSCT содержит индивидов в возрасте 65 или более, 70 или более, 75 или более, 80 или старше, 85 или более, 90 или более лет. В некоторых воплощениях вся популяция США с аллогенными HSCT содержит индивидов в возрасте 65 лет или старше.

В некоторых воплощениях донорский банк можно получать посредством конструирования первого минибанка линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано. В некоторых воплощениях получение донорского банка включает повторение всех стадий конструирования первого минибанка, как здесь описано. В некоторых воплощениях получение донорского банка включает один или более чем один второй цикл для конструирования одного или более чем одного второго минибанка.

Перед началом каждого второго раунда получают новый пул доноров. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров содержит первый пул доноров, за вычетом любых доноров с наибольшим соответствием, удаленных согласно каждому предыдущему циклу стадии (г) конструирования первого донорского минибанка, из первого и любого предыдущего второго раундов данного способа. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров содержит полностью новую популяцию потенциальных доноров, не включенную в первый пул доноров. Например, указанный новый пул доноров может включать потенциальных доноров, которые полностью отличаются от первого пула доноров. В некоторых воплощениях указанный новый пул доноров может содержать комбинацию первого пула доноров, за вычетом любых доноров с наибольшим соответствием, удаленных согласно каждому предыдущему циклу стадии (г) конструирования первого донорского минибанка из первого и любого предыдущего второго раунда данного способа, и полностью новой популяции потенциальных доноров, не включенной в первый пул доноров. В качестве примера указанный новый пул доноров может содержать трех доноров из первого пула доноров и 7 новых доноров, которые не находятся в первом пуле доноров.

В некоторых воплощениях перед началом каждого второго раунда способ конструирования донорского банка включает восстановление первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанное восстановление включает возвращение всех перспективных пациентов, которые были ранее удалены согласно каждому предыдущему циклу стадии (д) (т.е. удаление из первой совокупности перспективных

пациентов, причем каждый перспективный пациент, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием, с получением, посредством этого, второй совокупности перспективных пациентов, состоящей из каждой из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием) из первого и любого предыдущего второго раунда указанного способа.

В некоторых воплощениях способы конструирования первого донорского минибанка линий антигенспецифических Т-клеток включают выделение MNC или наличие MNC, выделенных из крови, полученной от каждого соответствующего донора, включенного в донорский минибанк. Можно отбирать кровь от каждого донора, включенного в донорский банк. В некоторых воплощениях собирают мононуклеарные клетки (MNC) в отобранной крови от каждого донора, включенного в донорский банк. MNC и PBMC выделяют посредством применения способов, известных специалисту в данной области. В качестве примеров для выделения PBMC можно использовать центрифугирование в градиенте плотности (Ficoll-Paque). В другом примере для выделения PBMC можно использовать пробирки для получения клеток (CPT) и пробирки SepMate со свежеотобранной кровью.

В некоторых воплощениях MNC представляют собой PBMC. В качестве примера, PBMC могут содержать лимфоциты, моноциты и дендритные клетки. В качестве примера, лимфоциты могут включать Т-клетки, В-клетки и NK-клетки. В некоторых воплощениях MNC в том виде, в котором они здесь используются, культивируют или подвергают криоконсервированию. В некоторых воплощениях способ культивирования или криоконсервирования клеток может включать приведение клеток в контакт в культуре с одним или более чем одним антигеном при подходящих культуральных условиях для стимуляции и размножения антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях один или более чем один антиген может содержать один или более чем один вирусный антиген. В некоторых воплощениях один или более чем один антиген может содержать один или более чем один опухоль-ассоциированный антиген. В других воплощениях один или более чем один антиген может содержать комбинацию одного или более чем одного вирусного антигена и одного или более чем одного опухоль-ассоциированного антигена. Например, культивируемые или криоконсервированные MNC или PBMC можно приводить в контакт с одним

аденовирусом, CTLA-4 и gp100. В других воплощениях каждый антиген представляет собой опухоль-ассоциированный антиген. В других воплощениях каждый антиген представляет собой вирусный антиген. В других воплощениях по меньшей мере один антиген представляет собой вирусный антиген, и по меньшей мере один антиген представляет собой опухоль-ассоциированный антиген.

В некоторых воплощениях способ культивирования или криоконсервирования клеток может включать приведение клеток в контакт в культуре с одним или более чем одним эпитопом из одного или более чем одного антигена при подходящих культуральных условиях. В некоторых воплощениях приведение в контакт MNC или PBMC с одним или более чем одним антигеном или одним или более чем одним эпитопом из одного или более чем одного антигена стимулирует и размножает поликлональную популяцию антигенспецифических Т-клеток из MNC или PBMC каждого соответствующего донора. В некоторых воплощениях линиии антигенспецифических Т-клеток можно криоконсервировать.

В некоторых воплощениях один или более чем один антиген может находиться в виде цельного белка. В некоторых воплощениях один или более чем один антиген может представлять собой смесь пептидов, содержащую серию перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или всю последовательность каждого антигена. В некоторых воплощениях один или более чем один антиген может представлять собой комбинацию цельного белка и смеси пептидов, содержащей набор перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или всю последовательность каждого антигена.

В некоторых воплощениях культивирование PBMC или MNC осуществляют в сосуде, содержащем газопроницаемую культуральную поверхность. В одном воплощении указанный сосуд представляет собой инфузионный мешок с газопроницаемой частью или жесткий сосуд. В одном воплощении указанный сосуд представляет собой биореактор GRex. В одном воплощении указанный сосуд может представлять собой любой контейнер, биореактор или тому подобное, который подходит для культивирования PBMC или MNC, как здесь описано.

В некоторых воплощениях PBMC или MNC культивируют в присутствии одного или более чем одного цитокина. В воплощениях один или более чем один цитокин, с которым культивируют мононуклеарные клетки и антигены, выбран из группы, состоящей из IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21 и их комбинации. В воплощениях указанный один или более чем один цитокин, с которым

культивируют мононуклеарные клетки и антигены, выбран из группы, состоящей из IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21 и их комбинации. В воплощениях указанный один или более чем один цитокин, с которым культивируют мононуклеарные клетки и антигены, выбран из группы, состоящей из IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21 и их комбинации, и не содержит IL-2. В некоторых воплощениях указанный цитокин представляет собой IL-4. В некоторых воплощениях указанный цитокин представляет собой IL-7. В некоторых воплощениях указанный цитокин представляет собой IL-4 и IL-7. В некоторых воплощениях указанный цитокин включает IL-4 и IL-7, но не IL-2. В некоторых воплощениях указанный цитокин может представлять собой любые комбинации цитокинов, которые подходят для культивирования PBMC или MNC, как здесь описано.

В некоторых воплощениях культивирование MNC или PBMC можно осуществлять в присутствии по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более чем 20 разных смесей пептидов. Смеси пептидов, совокупность пептидов содержат ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или всю последовательность антигена. В некоторых воплощениях MNC или PBMC можно культивировать в присутствии совокупности смесей пептидов. В данном случае каждая смесь пептидов охватывает по меньшей мере один антиген, который является другим, чем антиген, охватываемый каждой из других смесей пептидов в совокупности смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более чем 20 разных антигенов охватываются указанной совокупностью смесей пептидов. В некоторых воплощениях по меньшей мере один антиген из по меньшей мере 2 разных вирусов охватывается совокупностью смесей пептидов. На **ФИГ. 11** и **ФИГ. 12** показан пример общего протокола изготовления GMP (надлежащая производственная практика) конструирования линий антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях совокупность линий антигенспецифических Т-клеток индивидуально получают согласно данному способу, где каждую соответствующую линию получают из донорского материала (например, MNC или PBMC), полученного от доноров, выбранных согласно настоящему раскрытию, таким образом, что отобранные доноры имеют отличные друг от друга типы HLA, и указанные линии затем объединяют в пул (возможно после криоконсервирования и последующего оттаивания) с созданием универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток по настоящему

изобретению. Как обсуждается здесь далее, в некоторых воплощениях совокупность линий антигенспецифических Т-клеток получают от достаточного числа и разнообразия доноров с получением универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток (например, композиции UVST), содержащей по меньшей мере одну линию клеток, соответсвующую по меньшей мере по 2 аллелям HLA большой процентной доле данной популяции. В некоторых воплощениях указанная универсальная композиция антигенспецифических Т-клеток (например, композиция UVST) содержит по меньшей мере одну линию клеток, соответсвующую по меньшей мере по 2 аллелям HLA более чем 80%, более чем 85%, более чем 90% или более чем 95% данной популяции пациентов (например, описанной здесь популяции пациентов).

В некоторых воплощениях указанная смесь пептидов содержит 15-мерные пептиды. В некоторых воплощениях указанная смесь пептидов содержит пептиды, которые подходят для способов, как здесь описано. В некоторых воплощениях пептиды в указанной смеси пептидов, которые охватывают антиген, перекрываются в последовательности на 8 аминокислот, 9 аминокислот, 10 аминокислот, 11 аминокислот, 12 аминокислот, 13 аминокислот, 14 аминокислот, 15 аминокислот. В некоторых воплощениях пептиды в указанной смеси пептидов, которые охватывают антиген, перекрываются в последовательности на 11 аминокислот.

В некоторых воплощениях вирусный антиген в одной или более чем одной смеси пептидов имеет происхождение от вируса, выбранного из EBV, CMV, аденовируса, BK, вируса JC, HHV6, RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, LCMV, вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека, парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, вируса простого герпеса, HPV, HIV, HTLV1, HHV8 и вируса Западного Нила, вируса Зика, вируса Эбола. В некоторых воплощениях по меньшей мере одна смесь пептидов охватывает антиген из RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа, метапневмовируса человека (HMPV). В некоторых воплощениях указанный вирус может представлять собой любые подходящие вирусы.

В некотором воплощении антигены вируса гриппа могут представлять собой антиген NP1 вируса гриппа A. В некотором воплощении антигены вируса гриппа могут представлять собой антигены MP1 вируса гриппа A. В некотором воплощении антигены вируса гриппа могут представлять собой комбинацию NP1 и MP1. В

некоторых воплощениях антигены RSV могут представлять собой N RSV. В некоторых воплощениях антигены RSV, могут представлять собой F RSV. В некоторых воплощениях антигены RSV могут представлять собой комбинацию N и F RSV. В некоторых воплощениях антигены hMPV могут представлять собой F. В некоторых воплощениях антигены hMPV могут представлять собой N. В некоторых воплощениях антигены hMPV могут представлять собой M2-1. В некоторых воплощениях антигены hMPV могут представлять собой M. В некоторых воплощениях антигены hMPV могут представлять собой комбинацию F, N, M2-1 и M. В некоторых воплощениях антигены PIV могут представлять собой M. В некоторых воплощениях антигены PIV могут представлять собой HN. В некоторых воплощениях антигены PIV могут представлять собой N. В некоторых воплощениях антигены PIV могут представлять собой F. В некоторых воплощениях антигены PIV могут представлять собой комбинацию M, HN, N и F.

В других воплощениях по меньшей мере одна смесь пептидов охватывает антиген из EBV, CMV, аденовируса, BK и HHV6. В некоторых воплощениях антигены EBV имеют происхождение от LMP2, EBNA1, BZLF1 и их комбинации. В некоторых воплощениях антигены CMV имеют происхождение из IE1, pp65 и их комбинации. В некоторых воплощениях антигены аденовируса имеют происхождение из Hexon, Penton и их комбинации. В некоторых воплощениях антигены вируса BK имеют происхождение из VP1, большой T и их комбинации. В некоторых воплощениях антигены HHV6 имеют происхождение из U90, U11, U14 и их комбинации.

В некоторых воплощениях PBMC или MNC культивируют в присутствии смесей пептидов, охватывающих антиген NP1 вируса гриппа A и антиген MP1 вируса гриппа A, антигены N и F RSV, антигены F, N, M2-1 и M hMPV и антигены M, HN, N и F PIV. В некоторых воплощениях PBMC или MNC культивируют в присутствии смесей пептидов, охватывающих антигены LMP2, EBNA1 и BZLF1 EBV, антигены IE1 и pp65 CMV, антигены Hexon и Penton аденовируса, антигены VP1 и большой T вируса BK, антигены U90, U11 и U14 HHV6. В некоторых воплощениях антигенспецифические T-клетки анализируют на антигенспецифическую цитотоксичность.

На **ФИГ. 13** показана соответствующая эффективность линий антигенспецифических T-клеток против аденовируса, CMV, EBV, BKV и HHV6 по сравнению с негативным контролем, который ниже порога эффективности. T-клетки являются специфическими в отношении всех пяти вирусов, на что указывает значение

более 30 SFC/2×10^5 VST на входе, что является порогом для различения между принятием и отклонением линии специфических Т-клеток. Порог эффективности более 30 SFC/2×10^5 VST на входе установили на основе экспериментальных данных с использованием линий Т-клеток, полученных от доноров, которые были серонегативными (на основе серологического скрининга) в отношении одного или более чем одного вируса-мишени, который служил в качестве внутреннего негативного контроля (**ФИГ. 14**).

Согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния, включающие введение пациенту одной или более чем одной подходящей линии антигенспецифических Т-клеток из минибанка, как здесь описано. В воплощениях указанное раскрытие включает способы лечения заболевания или состояния, включающие введение пациенту универсального продукта антигенспецифических Т-клеток. В воплощениях универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток содержит линии клеток из минибанка, как здесь описано, где указанные линии клеток из минибанка были объединены в пул. В воплощениях указанные способы включают введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток из минибанка, как здесь описано, где указанные линии клеток из минибанка вводят пациенту в одной сессии дозирования.

В некоторых воплощениях пациент получал трансплантат гематопоэтических стволовых клеток. В некоторых воплощениях пациент получал трансплантат гематопоэтических стволовых клеток, и указанный способ включает введение пациенту универсального продукта антигенспецифических Т-клеток, содержащего линии клеток из минибанка, как здесь описано, где указанные линии клеток из минибанка были объединены в пул. В некоторых таких воплощениях часть линий клеток из минибанка были объединены в пул. В некоторых таких воплощениях все из линий клеток в минибанке были объединены в пул. В воплощениях указанный пациент получал трансплантат гематопоэтических стволовых клеток, и указанный способ включает введение указанному пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток из минибанка, как здесь описано, где указанные линии клеток из минибанка вводят пациенту в одной сессии дозирования. Таким образом, в воплощениях тип HLA пациента может быть или не может быть определен перед лечением.

В некоторых воплощениях заболевание, которое лечат, представляет собой

вирусную инфекцию. В некоторых воплощениях заболевание, которое лечат, представляет собой рак. В некоторых воплощениях состояние, которое лечат, представляет собой иммунодефицит. В некоторых воплощениях указанный иммунодефицит представляет собой первичный иммунодефицит. В воплощениях указанный пациент имеет вирусную инфекцию, рак или иммунодефицит, и указанный способ включает введение пациенту универсального продукта антигенспецифических Т-клеток, содержащего линии клеток из минибанка, как здесь описано, где указанные линии клеток из минибанка были объединены в пул. В некоторых таких воплощениях часть указанных линий клеток из минибанка были объединены в пул. В некоторых таких воплощениях все из линий клеток в минибанке были объединены в пул. В воплощениях пациент имеет вирусную инфекцию, рак или иммунодефицит, и указанный способ включает введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток из минибанка, как здесь описано, где указанные линии клеток из минибанка вводят пациенту в одной сессии дозирования. Таким образом, в воплощениях тип HLA пациента может быть или может не быть определен перед лечением.

В некоторых воплощениях пациент имеет ослабленный иммунитет. Термин «имеет ослабленный иммунитет» в том виде, как он здесь используется, означает имеющий ослабленную иммунную систему. Например, пациенты, которые имеют ослабленный иммунитет, имеют пониженную способность к борьбе с инфекциями и другими заболеваниями. В некоторых воплощениях пациент имеет ослабленный иммунитет из-за лечения, которое указанный пациент получал для лечения указанного заболевания или состояния, или другого заболевания или состояния. В некоторых воплощениях причиной ослабленного иммунитета является возраст. В одном воплощении причиной ослабленного иммунитета является юный возраст. В одном воплощении причиной ослабленного иммунитета является пожилой возраст. В некоторых воплощениях указанный пациент нуждается в трансплантационной терапии.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы отбора первой линии антигенспецифических Т-клеток из минибанка или из минибанка, содержащегося в донорском банке, для введения при терапии аллогенными Т-клетками пациенту, который получал трансплантированный материал от донора трансплантата в процедуре трансплантации. В одном воплощении указанное введение предназначено для лечения вирусной инфекции. В одном воплощении указанное введение предназначено для

лечения опухоли. В одном воплощении указанное введение предназначено для лечения вирусной инфекции и опухоли. В одном воплощении указанное введение осуществляют при первичном иммунодефиците перед трансплантацией. В некоторых воплощениях указанный трансплантированный материал содержит стволовые клетки. В некоторых воплощениях указанный трансплантированный материал содержит солидный орган. В некоторых воплощениях указанный трансплантированный материал содержит костный мозг. В некоторых воплощениях указанный трансплантированный материал содержит стволовые клетки, солидный орган и костный мозг.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы конструирования донорского банка, составленного из совокупности минибанков линий антигенспецифических Т-клеток. Термин «совокупность минибанков» в том виде, как он здесь используется, означет более чем один минибанк линий антигенспецифических Т-клеток. Например, донорский банк может содержать два, три, четыре, пять или шесть минибанков. В некоторых воплощениях конструирование донорского банка включает стадии и процедуры конструирования первого донорского минибанка, как здесь описано. Указанные стадии и процедуры включают осуществление одного или более чем одного второго раунда для конструирования одного или более чем одного второго минибанка. В некоторых воплощениях перед началом каждого второго раунда данного способа можно получать новый пул доноров. В некоторых воплощениях новый пул доноров включает первый пул доноров, за вычетом доноров с наибольшим соответствием, удаленных из первого и любого предыдущего второго раундов способа, как здесь раскрыто. В некоторых воплощениях новый пул доноров содержит полностью новую популяцию потенциальных доноров, не включенных в первый пул доноров. В некоторых воплощениях новый пул доноров содержит первый пул доноров, за вычетом доноров с наибольшим соответствием, удаленных из первого и любого предыдущего второго раундов способа, как здесь раскрыто, а также полностью новую популяцию потенциальных доноров, не включенных в первый пул доноров. В некоторых воплощениях получение нового пула доноров включает восстановление первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов путем возвращения всех перспективных пациентов, которые ранее были удалены из первого и любых предыдущих вторых раундов указанного способа, как здесь описано. В некоторых воплощениях после каждого раунда отбора и удаления MNC выделяют из крови, полученной от каждого соответствующего донора,

включенного в донорский минибанк. В некоторых воплощениях MNC культивируют и приводят в контакт с одним или более чем одним антигеном, или одним или более чем одним эпитопом из одного или более чем одного антигена при водходящих условиях культивирования. В некоторых воплощениях MNC стимулируются и размножают поликлональную популяцию антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях продуцируется совокупность линий Т-клеток. Способы культивирования, приведения в контакт антигенов и получения смесей пептидов являются такими же, как и способы конструирования первого донорского минибанка, как здесь описано.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения заболевания или состояния, включающие введение пациенту двух или более чем двух подходящих линий антигенспецифических Т-клеток из донорского банка, содержащего совокупность минибанков линий антигенспецифических Т-клеток, как здесь описано. В разных воплощениях две или более чем две подходящие линии антигенспецифических Т-клеток из указанного донорского банка вводят пациенту в одной сессии дозирования. В некоторых воплощениях все из линий антигенспецифических Т-клеток из донорского банка вводят пациенту, возможно в одной сессии дозирования.

Воспалительный ответ может быть выявлен посредством наблюдения одного или более чем одного симптома или признака (1) конститутивных симптомов, выбранных из лихорадки, мышечной ригидности, головной боли, чувства общего недомогания, слабости, тошноты, рвоты, артралгии; (2) сосудистых симптомов, включающих гипотензию; (3) сердечных симптомов, включающих аритмию; (4) дыхательной недостаточности; (5) почечных симптомов, включающих почечную недостаточность и уремию; и (6) лабораторных симптомов, включающих коагулопатию и синдром, подобный гемофагоцитарному лимфогистиоцитозу. В некоторых воплощениях воспалительный ответ может быть выявлен посредством наблюдения любых признаков, которые являются известными или обычными.

В некоторых воплощениях эффективность лечения измеряют после введения совокупности линий антигенспецифических Т-клеток и/или универсального продукта антигенспецифических Т-клеток. В других воплощениях эффективность лечения измеряют на основе виремического разрешения инфекции. В других воплощениях эффективность лечения измеряют на основе разрешения инфекции, наблюдаемого по выделению вируса с мочой. В других воплощениях эффективность лечения измеряют на основе разрешения вирусной нагрузки в образце от пациента. В других воплощениях

эффективность лечения измеряют на основе виремического разрешения инфекции, разрешения инфекции, наблюдаемого по выделению вируса с мочой, и разрешения вирусной нагрузки в образце от пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения измеряют посредством отслеживания вирусной нагрузки, выявляемой в периферической крови пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения включает разрешение макроскопической гематурии. В некоторых воплощениях эффективность лечения включает уменьшение симптомов геморрагического цистита при измерении посредством CTCAE-PRO или аналогичного средства оценки, которое проверяет пациента и/или результаты, доложенные лечащим врачом. В некоторых воплощениях эффективность лечения измеряют на основе уменьшения размера опухоли после введения совокупности линий антигенспецифических Т-клеток и/или универсального продукта антигенспецифических Т-клеток, когда лечение направлено против рака. В некоторых воплощениях эффективность лечения измеряют посредством отслеживания маркеров бремени заболевания, выявляемого в периферической крови/сыворотке пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения измеряют посредством отслеживания маркеров лизиса опухоли, выявляемых в периферической крови/сыворотке пациента. В некоторых воплощениях эффективность лечения измеряют посредством отслеживания состояния опухоли посредством исследований по визуализации.

В воплощениях указанный образец выбирают из образца ткани от пациента. В воплощениях указанный образец выбирают из жидкого образца от пациента. В воплощениях указанный образец выбирают из спинномозговой жидкости (CSF) от пациента. В воплощениях указанный образец выбирают из BAL от пациента. В воплощениях указанный образец выбирают из стула от пациента.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы идентификации подходящих доноров для применения в конструировании первого донорского минибанка антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанные способы включают определение типа HLA или наличие определенного типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров. В некоторых воплощениях указанные способы включают определение типа HLA или наличие определенного типа HLA каждого из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы включают сравнение типа HLA каждого из первой совокупности

потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы включают определение первого донора с наибольшим соответствием, определенного как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы включают отбор первого донора с наибольшим соответствием для включения в первый донорский минибанк.

В некоторых воплощениях указанные способы включают удаление из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием, с получением, посредством этого, второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях указанные способы включают удаление из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием. Затем получают вторую совокупность перспективных пациентов, состоящую из каждого из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях указанные способы включают повторение указанных стадий и способов, как здесь описано (например, сравнение типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов, с определением и отбором наибольшего соответствия для донорского минибанка, с удалением из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием и перспективных пациентов) для всех доноров и перспективных пациентов, которые еще не были удалены.

Каждый повторяющийся способ обеспечивает отбор дополнительного донора с наибольшим соответствием и удаление каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с последующим донором с наибольшим соответствием. Способы, как здесь описано, последовательно увеличивают число отобранных доноров с наибольшим соответствием в первом донорском минибанке на 1 после каждого цикла указанного способа. Указанные способы затем сокращают число

пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла указанного способа согласно их соответствию HLA с отобранными донорами с наибольшим соответствием. Указанные способы повторяют, пока в совокупности перспективных пациентов не остается желательная процентная доля (например, менее чем 5%) первой популяции перспективных пациентов, или пока в пуле доноров не останется доноров. В некоторых воплощениях указанные способы повторяют, пока более чем 95% перспективных пациентов не получают соответствия и не охватываются.

В конкретных воплощениях такие способы идентификации походящих доноров для применения в конструировании первого донорского минибанка антигенспецифических Т-клеток аналогичным образом используют в идентификации подходящих доноров для применения в конструировании универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток. Например, в некоторых воплощениях указанные способы включают определение типа HLA или наличие определенного типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров. В некоторых воплощениях указанные способы включают определение типа HLA или наличие определенного типа HLA каждого из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы включают сравнение типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов. В некоторых воплощениях указанные способы включают определение первого донора с наибольшим соответствием, определенного как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов. В некоторых воплощенях указанные способы включают отбор первого донора с наибольшим соответствием для включения в универсальную композицию антигенспецифических Т-клеток.

В некоторых воплощениях указанные способы включают удаление из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием, с получением, посредством этого, второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях указанные способы включают удаление из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного

пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием. Затем получают вторую совокупность перспективных пациентов, состоящую из каждого из первой совокупности перспективных пациентов, за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием. В некоторых воплощениях указанные способы включают повторение стадий и способов, как здесь описано (например, сравнение типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов, с определением и отбором наибольшего соответствия для универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток, с удалением из первого пула доноров первого донора с наибольшим соответствием и перспективных пациентов) для всех доноров и перспективных пациентов, которые еще не были удалены.

Каждый повторяющийся способ обеспечивает отбор дополнительного донора с наибольшим соответствием и удаление каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с аллелями последующего донора с наибольшим соответствием. Способы, как здесь описано, последовательно увеличивают число отобранных доноров с наибольшим соответствием для применения в универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток на 1 после каждого цикла указанного способа. Указанные способы затем сокращают число пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла указанного способа согласно их соответствию HLA с отобранными донорами с наибольшим соответствием. Указанные способы повторяют, пока в совокупности перспективных пациентов не остается желательной процентной доли (например, менее чем 5%) первой популяции перспективных пациентов, или пока в пуле доноров не останется доноров. В некоторых воплощениях указанные способы повторяют, пока не достигается соответствие и не охватывается более чем 95% перспективных пациентов. Клетки доноров можно затем обрабатывать для продукции линий антигенспецифических Т-клеток, например с использованием известного в данной области или раскрытого здесь способа. В некоторых воплощениях такие линии антигенспецифических Т-клеток можно затем объединять в пул с получением описанной здесь универсальной композиции антигенспецифических Т-клеток.

Вирусные инфекции являются серьезной причиной заболеваемости и

смертности после трансплантации аллогенных гематопоэтических стволовых клеток (allo-HSCT). Реактивация вируса, вероятно, происходит во время относительного или абсолютного иммунодефицита аплазии и во время иммуносупрессивной терапии после allo-HSCT. Инфекции, ассоциированные с вирусными патогенами, включающими цитомегаловирус (CMV), вирус BK (BKV) и аденовирус (AdV), становятся все более и более проблемными после allo-HSCT и ассоциированы со значительной заболеваемостью и смертностью.

Среди обычных инфекций CMV остается самой клинически важной инфекцией после трансплантации аллогенных гематопоэтических стволовых клеток (HSCT). Данные Центра международных исследований по трансплантации клеток крови и костного мозга (CIBMTR) показывают, что ранняя реактивация CMV после трансплантации происходит у более чем 30% серопозитивных в отношении CMV реципиентов HSCT и может приводить к колиту, ретиниту, пневмониту и смерти. Хотя противовирусные средства, включая ганцикловир, валганцикловир, летермовир, фоскарнет и цидофовир, использовали как профилактически, так и терапевтически, они не всегда являются эффективными и ассоциированы со значительными токсичностями, включающими подавление костного мозга, почечную токсичность и, в конечном счете, смертность без рецидива. Поскольку восстановление иммунитета остается первостепенным для контроля инфекции, адоптивный перенос размноженных *ex vivo*/выделенных CMV-специфических Т-клеток (CMVST) оказался эффективным способом обеспечения противовирусной пользы.

Ранние иммунотерапии, нацеленные на CMV, сосредотачивались на Т-клеточных продуктах, имеющих происхождение от доноров стволовых клеток, которые оказались и безопасными, и эффективными в серии академических исследований фазы I/II, охватывающих более чем 20 лет. Однако персонализированная природа указанной терапии, а также требование иммунных в отношении вируса доноров (важный вопрос, принимая во внимание пользу применения молодых доноров, которые с большей вероятностью являются наивными в отношении вируса) оказались барьерами, которые препятствуют широкому применению. Таким образом, совсем недавно в качестве терапевтического воздействия исследовали частично соответствующие по HLA вирусоспецифические Т-клетки (VST), имеющие происхождение от стороннего лица, которые можно получать перспективно и вносить в банк раньше клинической потребности. Указанные VST оказались безопасными и эффективными против ряда

вирусов, включая вирус Эпштейна-Барр, CMV, аденовирус, HHV6 и вирус BK у более чем 150 реципиентов HSCT или трансплантатов солидных органов (SOT) с инфекциями/заболеванием, трудно поддающимся лечению лекарственными средствами. Эти исследования побудили интерес к продвижению «готовых» вирусоспецифических Т-клеток к важнейшим исследованиям и последующему внедрению с остающимися вопросами, относящимися к (1) числу линий клеток, требующихся для приспособления к разнообразной популяции трансплантатов и (2) установлению критериев для отбора линии для обеспечения клинической пользы.

Кроме того, появление инфекций, вызванных реактивацией латентного BKV – члена семейства полиомавирусов – вызывает тяжелое клиническое заболевание у пациентов с HSCT. Первичным клиническим проявлением инфекции BKV после аллогенной HSCT является геморрагический цистит (BK-HC). Это случается у вплоть до 25% реципиентов аллогенной HSCT и проявляется в виде большой гематурии с тяжелой, часто изнуряющей абдоминальной болью, требующей длительных инфузий наркотических средств. У здоровых индивидов Т-клеточный иммунитет защищает против вирусов. У реципиентов allo-HSCT применение мощных иммуносупрессивных схем (и последующее ассоциированное с этим ослабление иммунитета) оставляет пациентов чувствительными к тяжелым вирусным инфекциям.

Респираторные вирусные инфекции, обусловленные негоспитальными респираторными вирусами (CARV), включающими респираторно-синцитиальный вирус (RSV), вирус гриппа, вирус парагриппа (PIV) и метапневмовирус человека (hMPV), выявляются у вплоть до 40% реципиентов трансплантатов аллогенных гематопоэтических стволовых клеток (allo-HSCT), у которых они могут вызывать тяжелое заболевание, такое как бронхиолит и пневмония, которые могут быть смертельными. Индуцированный RSV бронхиолит является самой обычной причиной госпитализации у детей младше 1 года, в то время как Центр контроля заболеваний (CDC) оценивает то, что ежегодно на долю гриппа приходится вплоть до 35,6 миллиона заболеваний во всем мире, от 140000 до 710000 госпитализаций, ежегодные затраты приблизительно 87,1 миллиард долларов США на меры борьбы с заболеванием только в США и от 12000 до 56000 смертей.

Согласно настоящему раскрытию предложено восстановление Т-клеточного иммунитета посредством введения размноженных *ex vivo*, не модифицированных генетически вирусоспецифических Т-клеток (VST) для контроля вирусных инфекций и

устранения симптомов в течение периода, пока не восстанавливается собственная иммунная система пациента с трансплантатом. Не желая быть связанными какими-либо теориями, VST распознают и уничтожают инфицированные вирусом клетки посредством их природного рецептора Т-клетки (TCR), который связывается с молекулами главного комплекса гистосовместимости (MHC), экспрессируемыми на клетках-мишенях, которые презентируют имеющие происхождение от вируса пептиды. В конкретных воплощениях согласно настоящему раскрытию предложено восстановление Т-клеточного иммунитета посредством введения описанных здесь UVST. Любая из описанных здесь композиций VST также может быть приготовлена в композицию UVST просто посредством объединения в пул двух или более чем двух композиций VST, которые имеют достаточное разнообразие HLA (например, где указанные линии VST получают из донорского материала, имеющего происхождение от по меньшей мере двух отдельных доноров, и где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA).

В некоторых воплощениях VST из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), которые доступны в виде частично соответствующего по HLA «готового» продукта, получают от здоровых, подвергнутых предварительному скринингу серопозитивных доноров. В некоторых воплощениях UVST из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), которые доступны в виде частично соответствующего по HLA «готового» продукта, получают от здоровых, подвергнутых предварительному скринингу серопозитивных доноров. В некоторых воплощениях UVST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на EBV, CMV, аденовирус, вирус BK, HHV6, RSV, вирус гриппа, вирус парагриппа, бокавирус, коронавирус, LCMV, вирус паротита, вирус кори, метапневмовирус, парвовирус B, ротавирус, вирус Западного Нила, вирус испанки или на их комбинацию. В некоторых воплощениях VST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на EBV, CMV, AdV, BKV и HHV6. В некоторых воплощениях UVST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на RSV, вирус гриппа, вирус парагриппа и метапневмовирус. В некоторых воплощениях UVST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на коронавирус (например, SARS-CoV2). В некоторых воплощениях UVST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на RSV, вирус гриппа, вирус парагриппа, метапневмовирус и коронавирус (например, SARS-CoV2). В некоторых воплощениях

UVST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на вирус гепатита B (HBV). В некоторых воплощениях UVST, как здесь описано, отвечают по меньшей мере на герпесвирус-8 человека.

В некоторых воплощениях VST конструируют для циркуляции только пока пациент не вернет иммунокомпетентность после приживления HSCT и репопуляции иммунной системы. Не желая быть связанными теориями, VST и способы, как здесь описано, представляют собой «терапию иммунологического моста», которая обеспечивает пациента с ослабленным иммунитетом Т-клеточным иммунитетом, пока у указанного пациента не произойдет приживление трансплантата, и он не сможет установить эндогенный иммунный ответ.

В воплощениях предложенный здесь способ включает профилактическое введение пациенту универсального продукта антигенспецифических Т-клеток и/или двух или более чем двух линий антигенспецифических Т-клеток, полученных от доноров с разными типами HLA (например, с двумя или более чем двумя линиями антигенспецифических Т-клеток из предложенного здесь донорского минибанка или донорского банка). В воплощениях профилактическое введение двух или более чем двух линий антигенспецифических Т-клеток осуществляют в одной сессии дозирования. В воплощениях способы включают профилактическое введение UVST. Указанное профилактическое введение является таким, что пациент не демонстрирует доказательства активной вирусной инфекции или реактивации латентного вируса при введении Т-клеточного продукта. Например, в воплощениях указанному пациенту вводят специфический в отношении одного или более чем одного вируса продукт UVST, где указанный пациент не имеет активную инфекцию в отношении одного или более чем одного вируса, или где указанный пациент не имеет какой-либо активной вирусной инфекции. В воплощениях указанный пациент не имеет выявляемой виремии или наличия вирусов в моче при введении линии Т-клеток.

В воплощениях указанный универсальный продукт антигенспецифических Т-клеток и/или две или более чем две линии антигенспецифических Т-клеток, полученные от доноров с разными типами HLA (например, с двумя или более чем двумя линиями антигенспецифических Т-клеток из предложенного здесь донорского минибанка или донорского банка), способны сохраняться и сохранять способность к размножению у пациента-реципиента в отсутствие активной вирусной инфекции в отношении которой Т-клетки имеют специфичность. Кроме того, в воплощениях линии

Т-клеток способны сохраняться в течение нескольких недель после введения пациенту и затем размножаются немедленно при инфекции или реактивации одного или более чем одного вируса, в отношении которого они являются специфическими. В некоторых воплощениях стойкость указанного универсального продукта антигенспецифических Т-клеток и/или двух или более чем двух линий антигенспецифических Т-клеток, полученных от доноров с разными типами HLA (например, с двумя или более чем двумя линиями антигенспецифических Т-клеток из предложенного здесь донорского минибанка или донорского банка) у пациента увеличивается посредством введения пациенту бустерной вакцины, содержащей один или более чем один антиген, используемый в получении универсального продукта антигенспецифических Т-клеток и/или двух или более чем двух линий антигенспецифических Т-клеток. Таким образом, согласно настоящему раскрытию предложен высокоэффективный способ предупреждения или контролирования вирусной инфекции или реактивации латентного вируса в аллогенной постановке с использованием универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками и/или линиями Т-клеток из предложенного здесь донорского минибанка или донорского банка. В частности, предложенные здесь способы и композиции обеспечивают немедленно доступную, безопасную и эффективную защиту против вредных вирусных инфекций у пациентов с высоким риском, таких как пациенты, которые являются реципиентами аллогенного HSCT.

Вирусные антигены

В некоторых воплощениях данного раскрытия полученные антигенспецифические Т-клетки предоставляют индивиду, который имеет или подвержен риску наличия патогенной инфекции, включающей вирусную, бактериальную или грибковую инфекцию. В некоторых воплощениях данного раскрытия полученные универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток предоставляют индивиду, который имеет или подвержен риску наличия патогенной инфекции, включающей вирусную, бактериальную или грибковую инфекцию. Указанный индивид может иметь или может не иметь ослабленную иммунную систему. В некоторых случаях указанный индивид имеет вирусную, бактериальную или грибковую инфекцию после трансплантации органа или стволовых клеток (включая трансплантацию гематопоэтических стволовых клеток), или имеет рак или, например, был подвергнут лечению против рака. В некоторых случаях указанный индивид имеет

инфекцию после приобретенной недостаточности иммунной системы.

Инфекция у указанного индивида может быть любого вида, но в конкретных воплощениях указанная инфекция является результатом воздействия одного или более чем одного вируса. Указанный патогенный вирус может быть любого вида, но в конкретных воплощениях он имеет происхождение из одного из следующих семейств: Adenoviridae, Picornaviridae, Herpesviridae, Hepadnaviridae, Flaviviridae, Retroviridae, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Papovaviridae, Polyomavirus, Rhabdoviridae или Togaviridae. В некоторых воплощениях указанный вирус продуцирует антигены, которые являются иммунодоминантными или субдоминантными, или продуцирует оба вида антигенов. В конкретных воплощениях указанный вирус выбран из группы, состоящей из следующих: EBV, CMV, аденовирус, вирус BK, HHV6, RSV, вирус гриппа, вирус парагриппа, бокавирус, коронавирус, LCMV, вирус паротита, вирус кори, метапневмовирус, парвовирус B, ротавирус, вирус Западного Нила, вирус испанки и их комбинация.

В некоторых аспектах указанная инфекция является результатом воздействия патогенных бактерий, и настоящее изобретение применимо к любому типу патогенных бактерий. Типичные патогенные бактерии включают по меньшей мере *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Rickettsia prowazekii*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *Campylobacter* и *Salmonella*.

В некоторых аспектах указанная инфекция является результатом воздействия патогенного грибка, и настоящее изобретение применимо к любому типу патогенного грибка. Типичные патогенные грибки включают по меньшей мере *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Histoplasma*, *Pneumocystis* или *Stachybotrys*. В некоторых воплощениях вирусные антигены могут представлять собой любые антигены, которые подходят для применения, как описано в настоящем раскрытии.

Опухолевые антигены

В воплощениях, в которых ТАА-специфические или мультиТАА-специфические антигенспецифические Т-клетки используют для лечения и/или предупреждения рака, мишенью может быть целый ряд ТАА. В воплощениях, в которых ТАА-специфические или мультиТАА-специфические универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток используют для лечения и/или предупреждения рака, мишенью может быть целый ряд ТАА. Опухолевые антигены представляют собой вещества, продуцируемые

в опухолевых клетках, которые запускают иммунный ответ у хозяина. Термины «опухолевый антиген», «опухоль-ассоциированный антиген» и «TAA» в том виде, как они здесь используются, используются взаимозаменяемо. Таким образом, данные термины охватывают и опухолепецифичные антигены (которые представляют собой антигены, которые экспрессируются только на опухолевых клетках, но не на здоровых клетках), и опухоль-ассоциированные антигены, которые подвергаются повышающей регуляции/сверхэкспрессируются на опухолевых клетках, но не являются специфическими для опухолевых клеток.

Типичные опухолевые антигены включают по меньшей мере следующие: карциноэмбриональный антиген (CEA) для видов рака кишечника; CA-125 для рака яичника; MUC-1 или эпителиальный опухолевый антиген (ETA), или CA15-3 для рака молочной железы; тирозиназа или ассоциированный с меланомой антиген (MAGE) для злокачественной меланомы; и ненормальные продукты ras, p53 для целого ряда типов опухолей; альфафетопротеин для гепатомы, рака яичника или яичка; бета-субъединица hCG для мужчин с раком яичка; простатоспецифический антиген для рака простаты; бета 2 микроглобулин для множественной миеломы и при некоторых лимфомах; CA19-9 для рака толстой кишки, желчного протока и поджелудочной железы; хромогранин A для рака легкого и простаты; TA90 для меланомы, сарком мягких тканей и рака молочной железы, толстой кишки и легкого. Примеры опухолевых антигенов известны в данной области, например в Cheever *et al.*, 2009, которая включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте.

Конкретные примеры опухолевых антигенов включают, например, по меньшей мере CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α. WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутант Ras, gp 100, мутант p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-

1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos. В некоторых воплощениях опухолевые антигены могут представлять собой любые антигены, которые подходят для применения, как описано в настоящем раскрытии.

Типичные виды рака включают виды рака, которые представляют собой солидные опухоли или гематологические злокачественные заболевания. В воплощениях указанный рак выбран из группы, состоящей из следующих: рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак легкого или крупноклеточный рак легкого), рак головы и шеи, мезотелиома (например, злокачественная превральная мезотелиома), рак поджелудочной железы (например, аденокарцинома протоков поджелудочной железы или метастатическая аденокарцинома протоков поджелудочной железы (PDA)), рак пищевода, рак яичника, рак шейки матки, рак фаллопиевой трубы, рак молочной железы, рак желудка, колоректальный рак или рак мочевого пузыря, меланома или их любая комбинация. В воплощениях указанный рак представляет собой лейкоз или лимфому. В воплощениях указанный рак выбран из группы, состоящей из хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфомы из клеток мантии (MCL), множественной миеломы, острого лимфобластного лейкоза (ALL), ходжкинской лимфомы, В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (BALL), Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (TALL), мелкоклеточного лимфоцитарного лейкоза (SLL), В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, бластного новообразования из плазмацитоидных дентритных клеток, лимфомы Беркитта, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL), DLBCL, ассоциированной с хроническим воспалением, хронического миелоидного лейкоза, миелопролиферативных новообразований, фолликулярной лимфомы, детской фолликулярной лимфомы, волосатоклеточного лейкоза, мелкоклеточной или крупноклеточной фолликулярной лимфомы, злокачественных лимфопролиферативных состояний, лимфомы MALT (экстранодальная лимфома из клеток маргинальной зоны лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой), лимфомы из клеток маргинальной зоны, миелодисплазии, миелодиспластического синдрома, неходжкинской лимфомы, плазмабластической лимфомы, новообразования плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемии Вальденстрема, лимфомы маргинальной зоны селезенки, лимфомы/лейкоза селезенки, диффузной мелкоклеточной В-клеточной лимфомы красной пульпы селезенки, варианта волосатоклеточного лейкоза,

лимфоплазмацитарной лимфомы, болезни тяжелых цепей, плазмаклеточной миеломы, солитарной плазмацитомы кости, экстраоссальной плазмацитомы, нодальной лимфомы из клеток маргинальной зоны, детской нодальной лимфомы из клеток маргинальной зоны, первичной кожной лимфомы из клеток центра фолликула, лимфоматоидного гранулематоза, первичной крупноклеточной В-клеточной лимфомы средостения (тимуса), внутрисосудистой крупноклеточной В-клеточной лимфомы, ALK+ крупноклеточной В-клеточной лимфомы, крупноклеточной В-клеточной лимфомы, возникающей при ассоциированной с HHV8 многоочаговой болезни Кастлемана, первичной эффузионной лимфомы, В-клеточной лимфомы, острого миелоидного лейкоза (AML) и неклассифицируемой лимфомы.

Получение библиотек смесей пептидов

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предложена библиотека пептидов для PBMC, в конечном счете, для получения антигенспецифических Т-клеток. Указанная библиотека в конкретных случаях содержит смесь пептидов («смеси пептидов»), которые охватывают часть или весь тот же самый антиген. Смеси пептидов, используемые в настоящем изобретении, могут иметь происхождение из имеющихся в продаже библиотек пептидов, составленных из пептидов, которые, в некоторых аспектах, имеют 15 аминокислот в длину и перекрываются друг с другом на 11 аминокислот. В некоторых случаях они могут быть получены синтетически. Примеры включают смеси пептидов от JPT Technologies (Springfield, VA) или Miltenyi Biotec (Auburn, CA). В конкретных воплощениях данные пептиды имеют, например, по меньшей мере 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35, или более чем 35 аминокислот в длину, и в конкретных воплощениях, например, имеется перекрытие по меньшей мере на 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34 аминокислоты в длину.

В некоторых воплощениях аминокислоты в том виде, в котором они используются в указанных смесях пептидов, имеют чистоту по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,9%, включая все интервалы и подинтервалы между ними. В некоторых воплощениях

аминокислоты в том виде, в котором они используются в указанных смесях пептидов, имеют чистоту по меньшей мере 90%.

Смесь разных пептидов может включать любое соотношение указанных разных пептидов, хотя в некоторых воплощениях каждый конкретный пептид присутствует в по существу таком же количестве в указанной смеси, что и другой конкретный пептид. Способы приготовления и получения смесей пептидов для мультивирусных антигенспецифических Т-клеток с широкой специфичностью описаны в US2018/0187152, которая включена посредством ссылки во всей ее полноте.

Универсальные композиции вирусоспецифических Т-клеток

Настоящее раскрытие включает поликлональные композиции вирусоспецифических Т-клеток, полученные от серопозитивных доноров (например, отобранных посредством раскрытых здесь способов отбора доноров), со специфичностью против клинически значимых вирусов. Настоящее раскрытие также включает универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, как здесь раскрыто, содержащие совокупность таких поликлональных композиций вирусоспецифических Т-клеток, полученных от совокупности таких доноров. В некоторых воплощениях клинически значимые вирусы могут включать EBV, CMV, AdV, BKV и HHV6, но не ограничиваются ими. В некоторых воплощениях вирусные антигены охватывают иммуногенные антигены от вируса BK (VP1 и большой T), AdV (Hexon и Penton), CMV (IE1 и pp65), EBV (LMP2, EBNA1, BZLF1) и HHV6 (U90, U11 и U14).

Согласно настоящему раскрытию предложена композиция, содержащая поликлональную популяцию антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанная поликлональная популяция антигенспецифических Т-клеток может распознавать совокупность вирусных антигенов. В некоторых воплощениях указанная совокупность вирусных антигенов может содержать по меньшей мере один первый антиген из вируса парагриппа типа 3 (PIV). В некоторых воплощениях указанная совокупность вирусных антигенов может содержать по меньшей мере один второй антиген из одного или более чем одного второго вируса. В некоторых воплощениях настоящее раскрытие также включает универсальные композиции антигенспецифических Т-клеток, как здесь раскрыто, содержащие совокупность таких антигенспецифических Т-клеток, полученную от совокупности таких доноров.

В некоторых воплощениях поликлональные композиции вирусоспецифических

Т-клеток имеют специфичность против любых клинически значимых или релевантных вирусов. Например, поликлональные композиции вирусоспецифических Т-клеток могут содержать VST со специфичностью к вирусным антигенам, включающим CMV, BKV, PIV и RSV. В некоторых воплощениях композиции UVST имеют специфичность против любых клинически значимых или релевантных вирусов. Например, композиции UVST могут содержать VST со специфичностью в отношении вирусных антигенов, включающих CMV, BKV, PIV и RSV.

В некоторых воплощениях первый антиген может представлять собой антиген M PIV. В некоторых воплощениях первый антиген может представлять собой антиген HN PIV. В некоторых воплощениях первый антиген может представлять собой антиген N PIV. В некоторых воплощениях первый антиген может представлять собой антиген F PIV. В некоторых воплощениях первый антиген может представлять собой любые комбинации антигена M PIV, антигена HN PIV, антигена N PIV и антигена F PIV. В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью в отношении 1 первого антигена. В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью в отношении 2 первых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью в отношении 3 первых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью в отношении 4 первых антигенов. В некоторых воплощениях указанные 4 первых антигена могут содержать антиген M PIV, антиген HN PIV, антиген N PIV и антиген F PIV.

В некоторых воплощениях указанный один или более чем один второй вирус может представлять собой респираторно-синцитиальный вирус (RSV). В некоторых воплощениях указанный один или более чем один второй вирус может представлять собой вирус гриппа. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один второй вирус может представлять собой метапневмовирус человека (hMPV). В некоторых воплощениях указанный один или более чем один второй вирус может включать респираторно-синцитиальный вирус (RSV), вирус гриппа и метапневмовирус человека. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один второй вирус может состоять из респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа и метапневмовируса человека. В некоторых воплощениях указанный один или более чем один второй вирус может быть выбран из любых подходящих вирусов, как здесь описано. В некоторых воплощениях композиции UVST имеют специфичность против

одного или более чем одного из RSV, вируса гриппа или hMPV.

В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью к двум или трем вторым вирусам. В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью к трем вторым вирусам. В некоторых воплощениях указанные три вторых вируса могут включать вирус гриппа, RSV и hMPV. В некоторых воплощениях указанная композиция может содержать VST со специфичностью к по меньшей мере двум вторым антигенам на каждый второй вирус. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 1 второго антигена. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 2 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 3 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 4 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 5 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит 6 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 7 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 8 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 9 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 10 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 11 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении 12 вторых антигенов. В некоторых воплощениях указанная композиция содержит VST со специфичностью в отношении любого числа вторых антигенов, которые были бы подходящими для композиций, как здесь описано.

В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген NP1 вируса гриппа. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген MP1 вируса гриппа. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген N RSV. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген F RSV. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген M hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген может

представлять собой антиген M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген F hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой антиген N hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген может представлять собой любые комбинации антигена NP1 вируса гриппа, антигена MP1 вируса гриппа, антигена N RSV, антигена F RSV, антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV и антигена N hMPV.

В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген NP1 вируса гриппа. В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген MP1 вируса гриппа. В некоторых воплощениях второй антиген содержит и антиген NP1 вируса гриппа, и антиген MP1 вируса гриппа. В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген N RSV. В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген F RSV. В некоторых воплощениях второй антиген содержит и антиген N RSV, и антиген F RSV.

В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген M hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген M2-1 hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген F hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген содержит антиген N hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген содержит комбинации антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV и антигена N hMPV.

В некоторых воплощениях второй антиген содержит каждый из антигена NP1 вируса гриппа, антигена MP1 вируса гриппа, антигена N RSV, антигена F RSV, антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV, антигена N hMPV. В некоторых воплощениях указанная совокупость антигенов содержит антиген M PIV, антиген HN PIV, антиген N PIV, антиген F PIV, антиген NP1 вируса гриппа, антиген MP1 вируса гриппа, антиген N RSV, антиген F RSV, антиген M hMPV, антиген M2-1 hMPV, антиген F hMPV и антиген N hMPV. В некоторых воплощениях указанная совокупость антигенов состоит из антигена M PIV, антигена HN PIV, антигена N PIV, антигена F PIV, антигена NP1 вируса гриппа, антигена MP1 вируса гриппа, антигена N RSV, антигена F RSV, антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV и антигена N hMPV. В некоторых воплощениях указанная совокупость антигенов по существу состоит из антигена M PIV, антигена HN PIV, антигена N PIV, антигена F PIV, антигена NP1 вируса гриппа, антигена MP1 вируса гриппа, антигена N RSV, антигена F RSV, антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV и антигена N hMPV. В некоторых воплощениях второй антиген может содержать любые

подходящие антигены для композиций, как здесь описано.

В некоторых воплощениях клинически значимые вирусы могут включать HHV8, но не ограничиваются им. В некоторых воплощениях указанные вирусные антигены охватывают иммуногенные антигены от HHV8. В некоторых воплощениях указанные антигены от HHV8 выбраны из LANA-1 (ORF3); LANA-2 (vIRF3, K10.5); vCYC (ORF72); RTA (ORF50); vFLIP (ORF71); капосина (ORF12, K12); gB (ORF8); MIR1 (K3); SSB (ORF6); TS (ORF70) и их комбинации.

В некоторых воплощениях клинически значимые вирусы могут включать HBV, но не ограничиваются им. В некоторых воплощениях указанные вирусные антигены охватывают иммуногенные антигены от HBV. В некоторых воплощениях указанные антигены от HBV выбраны из (1) корового антигена HBV, (2) поверхностного антигена HBV и (3) корового антигена HBV и поверхностного антигена HBV.

В воплощениях композиции UVST имеют специфичность против любых клинически значимых или релевантных вирусов. Например, композиции UVST могут содержать VST со специфичностью в отношении вирусных антигенов, включающих антигены из HHV8 и/или HBV.

В некоторых воплощениях клинически значимые вирусы могут включать коронавирус, но не ограничиваются им. В некоторых воплощениях указанный коронавирус представляет собой α-коронавирус (α-CoV). В некоторых воплощениях указанный коронавирус представляет собой β-коронавирус (β-CoV). В некоторых воплощениях указанный β-CoV выбран из SARS-CoV, SARS-CoV2, MERS-CoV, HCoV-HKU1 и HCoV-OC43. В некоторых воплощениях указанный коронавирус представляет собой SARS-CoV2. В некоторых воплощениях антиген SARS-CoV2 содержит один или более чем один антиген, выбранный из группы, состоящей из следующих: (1) nsp1; nsp3; nsp4; nsp5; nsp6; nsp10; nsp12; nsp13; nsp14; nsp15 и nsp16; (2) шип (S); белок оболочки (E); белок матрикса (M) и белок нуклеокапсида (N); и (3) SARS-CoV-2 (AP3A); SARS-CoV-2 (NS7); SARS-CoV-2 (NS8); SARS-CoV-2 (ORF10); SARS-CoV-2 (ORF9B) и SARS-CoV-2 (Y14). В воплощениях композиции UVST могут содержать VST со специфичностью в отношении вирусных антигенов, включающих антигены от коронавируса, например SARS-CoV2.

В некоторых воплощениях антигенспецифические Т-клетки в указанных композициях могут быть получены посредством приведения в контакт

мононуклеарных клеток (MNC) с совокупностью библиотек смесей пептидов. В некоторых воплощениях антигенспецифические Т-клетки в указанных композициях могут быть получены посредством приведения в контакт мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) с совокупностью библиотек смесей пептидов. В некоторых воплощениях каждая библиотека смесей пептидов содержит совокупность перекрывающихся пептидов, охватывающих по меньшей мере часть вирусного антигена. В некоторых воплощениях по меньшей мере один из совокупности библиотек смесей пептидов охватывает первый антиген из PIV. В некоторых воплощениях по меньшей мере одна дополнительная библиотека смесей пептидов совокупности библиотек смесей пептидов охватывает каждый второй антиген.

В некоторых воплощениях антигенспецифические Т-клетки могут быть получены посредством приведения в контакт Т-клеток с дендритными клетками (DC), нуклеофицированными по меньшей мере одной ДНК-плазмидой. В некоторых воплощениях указанная ДНК-плазмида может кодировать антиген PIV. В некоторых воплощениях по меньшей мере одна ДНК-плазмида кодирует каждый второй антиген. В некоторых воплощениях указанная плазмида кодирует по меньшей мере один антиген PIV и по меньшей мере один из вторых антигенов. В некоторых воплощениях композиции, как здесь описано, содержат Т-лимфоциты CD4+ и Т-лимфоциты CD8+. В некоторых воплощениях указанные композиции содержат антигенспецифические Т-клетки, экспрессирующие рецепторы Т-клеток αβ. В некоторых воплощениях указанные композиции содержат антигенспецифические Т-клетки, ограниченные по МНС.

В некоторых воплощениях указанные Т-клетки можно культивировать *ex vivo* в присутствии одного или более чем одного цитокина, выбранного из IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL17, IL18 и IL-21. В воплощениях указанные Т-клетки можно культивировать *ex vivo* в присутствии одного или более чем одного цитокина, выбранного из IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL17, IL18 и IL-21. В воплощениях указанные Т-клетки можно культивировать *ex vivo* в присутствии одного или более чем одного цитокина, выбранного из IL-1, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, IL17, IL18 и IL-21; где указанные цитокины не содержат IL-2. В некоторых воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки можно культивировать *ex vivo* в присутствии и IL-7, и IL-4. В некоторых воплощениях мультивирусные антигенспецифические Т-клетки

достаточно размножались в пределах 9 суток, 10 суток, 11 суток, 12 суток, 13 суток, 14 суток, 15 суток, 16 суток, 17 суток, 18 суток, 19 суток, 20 суток, включая все интервалы и подинтервалы культивирования между ними таким образом, что они готовы для введения пациенту. В некоторых воплощениях мультивирусные антигенспецифические Т-клетки достаточно размножались в пределах любого числа суток, которое является подходящим для композиций, как здесь описано.

Согласно настоящему раскрытию предложены композиции, содержащие антигенспецифические Т-клетки, которые демонстрируют пренебрежимо малую аллореактивность. В некоторых воплощениях указанные композиции содержат антигенспецифические Т-клетки, которые демонстрируют меньшую индуцированную активацией клуточную гибель антигенспецифических Т-клеток, отобранных от пациента, чем соответствующие антигенспецифические Т-клетки, отобранные от того же самого пациента. В некоторых воплощениях указанные композиции не культивируют в присутствии как IL-7, так и IL-4. В некоторых воплощениях композиции, содержащие антигенспецифические Т-клетки, демонстрируют жизнеспособность более чем 70%.

В некоторых воплощениях указанные композиции являются негативными в отношении бактерий и грибков в течение по меньшей мере 1 суток, по меньшей мере 2 суток, по меньшей мере 3 суток, по меньшей мере 4 суток, по меньшей мере 5 суток, по меньшей мере 6 суток, по меньшей мере 7 суток, по меньшей мере 8 суток, по меньшей мере 9 суток, по меньшей мере 10 суток в культуре. В некоторых воплощениях указанная композиция является негативной в отношении бактерий и грибков в течение по меньшей мере 7 суток в культуре. В некоторых воплощениях указанные композиции демонстрируют менее чем 1 EU/мл, менее чем 2 EU/мл, менее чем 3 EU/мл, менее чем 4 EU/мл, менее чем 5 EU/мл, менее чем 6 EU/мл, менее чем 7 EU/мл, менее чем 8 EU/мл, менее чем 9 EU/мл, менее чем 10 EU/мл эндотоксина. В некоторых воплощениях указанные композиции демонстрируют менее чем 5 EU/мл эндотоксина. В некоторых воплощениях указанные композиции являются негативными в отношении микоплазмы.

В некоторых воплощениях смеси пептидов, используемые для конструирования поликлональной популяции антигенспецифических Т-клеток, синтезированы химически. В некоторых воплощениях указанные смеси пептидов возможно являются чистыми на более чем 10%, более чем 20%, более чем 30%, более чем 40%, более чем 50%, более чем 60%, более чем 70%, более чем 80%, более чем 90%, включая все

интервалы и подинтервалы между ними. В некоторых воплощениях данные смеси пептидов возможно являются чистыми на более чем 90%.

В некоторых воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки являются Th1-поляризованными. В некоторых воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки способны лизировать клетки-мишени, экспрессирующие вирусный антиген. В некоторых воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки способны лизировать другие подходящие типы клеток-мишеней, экспрессирующих антиген. В некоторых воплощениях антигенспецифические Т-клетки в указанных композициях не лизируют значимо неинфицированные аутологические клетки-мишени. В некоторых воплощениях антигенспецифические Т-клетки в указанных композициях не лизируют значимо неинфицированные аутологические аллогенные клетки-мишени.

Согласно настоящему раскрытию предложены фармацевтические композиции, содержащие любые композиции, приготовленные для внутривенной доставки (например, фармацевтическая композиция, содержащая линию описанных здесь антигенспецифических Т-клеток из донорского минибанка, приготовленная для внутривенной доставки). В некоторых воплощениях указанные композиции являются негативными в отношении бактерий в течение по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8 суток, по меньшей мере 9 суток, по меньшей мере 10 суток в культуре. В некоторых воплощениях указанные композиции являются негативными в отношении бактерий в течение по меньшей мере 7 суток в культуре. В некоторых воплощениях указанные композиции являются негативными в отношении грибков в течение по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8 суток, по меньшей мере 9 суток, по меньшей мере 10 суток в культуре. В некоторых воплощениях указанные композиции являются негативными в отношении грибков в течение по меньшей мере 7 суток в культуре.

Настоящие фармацевтические композиции демонстрируют менее чем 1 EU/мл, менее чем 2 EU/мл, менее чем 3 EU/мл, менее чем 4 EU/мл, менее чем 5 EU/мл, менее чем 6 EU/мл, менее чем 7 EU/мл, менее чем 8 EU/мл, менее чем 9 EU/мл или менее чем 10 EU/мл эндотоксина. В некоторых воплощениях настоящие фармацевтические композиции являются негативными в отношении микоплазмы.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы лизирования клетки-

мишени, включающие приведение в контакт указанной клетки-мишни с композициями или фармацевтическими композициями, как здесь описано (например, с описанной здесь линией антигенспецифических Т-клеток из донорского минибанка или с фармацевтической композицией, содержащей такую линию Т-клеток, приготовленную для внутривенной доставки). В некоторых воплощениях приведение в контакт указанной клетки-мишни с композициями или фармацевтическими композициями происходит в субъекте *in vivo*. В некоторых воплощениях приведение в контакт указанной клетки-мишни с композициями или фармацевтическими композициями происходит *in vivo* посредством введения субъекту антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанный субъект представляет собой человека.

Согласно настоящему раскрытию предложены способы лечения или предупреждения вирусной инфекции, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиций или фармацевтических композиций, как здесь описано (например, описанной здесь линии антигенспецифических Т-клеток из донорского минибанка или фармацевтической композиции, содержащей такую линию Т-клеток, приготовленную для внутривенной доставки). В некоторых воплощениях количество антигенспецифических Т-клеток, которые вводят, варьирует от 5×10^3 до 5×10^9 антигенспецифических Т-клеток/м^2, от 5×10^4 до 5×10^8 антигенспецифических Т-клеток/м^2 и от 5×10^5 до 5×10^7 антигенспецифических Т-клеток/м^2, от 5×10^4 до 5×10^8 антигенспецифических Т-клеток/м^2, от 5×10^6 до 5×10^9 антигенспецифических Т-клеток/м^2, включая все интервалы и подинтервалы между ними. В некоторых воплощениях указанные антигенспецифические Т-клетки вводят субъекту. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет ослабленный иммунитет. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет острый миелоидный лейкоз. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет острый лимфобластный лейкоз. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет хронический гранулематоз.

В некоторых воплощениях указанный субъект может иметь одно или более чем одно медицинское состояние. В некоторых воплощениях указанный субъект получает трансплантат соответствущего родственного донора с пониженной интенсивностью кондиционирования перед получением антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанный субъект получает трансплантат соответствущего неродственного донора с миелоаблативным кондиционированием перед получением

антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанный субъект получает гаплоидентичный трансплантат с пониженной интенсивностью кондиционирования перед получением антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанный субъект получает трансплантат соответствущего родственного донора с миелоаблативным кондиционированием перед получением антигенспецифических Т-клеток. В некоторых воплощениях указанный субъект получал трансплантацию солидного органа. В некоторых воплощениях указанный субъект получал химиотерапию. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет HIV-инфекцию. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет генетический иммунодефицит. В некоторых воплощениях указанный субъект получал трансплантат аллогенных стволовых клеток. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет более чем одно медицинское состояние, как описано в данном абзаце. В некоторых воплощениях указанный субъект имеет все медицинские состояния, как описано в данном абзаце.

В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту множество раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем один раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем два раза. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем три раза. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем четыре раза. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем пять раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем шесть раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем семь раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем восемь раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем девять раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту более чем десять раз. В некоторых воплощениях композицию, как здесь описано, вводят указанному субъекту такое число раз, которое является подходящим для указанных субъектов.

В некоторых воплощениях введение указанной композиции эффективно лечит или предупреждает вирусную инфекцию у субъекта. В некоторых воплощениях

указанная вирусная инфекция представляет собой вирус парагриппа типа 3. В некоторых воплощениях указанная вирусная инфекция представляет собой респираторно-синцитиальный вирус. В некоторых воплощениях указанная вирусная инфекция представляет собой вирус гриппа. В некоторых воплощениях указанная вирусная инфекция представляет собой метапневмовирус человека.

Согласно настоящему раскрытию предложены композиции, содержащие поликлональную популяцию антигенспецифических Т-клеток, которые распознают совокупность вирусных антигенов, и донорские минибанки, как здесь описано, содержащие совокупность линий клеток, содержащих такие антигенспецифические Т-клетки. Согласно настоящему раскрытию предложено то, что указанная совокупность вирусных антигенов содержит по меньшей мере один антиген. В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один антиген может представлять собой вирус парагриппа типа 3 (PIV). В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один антиген может представлять собой респираторно-синцитиальный вирус. В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один антиген может представлять собой вирус гриппа. В некоторых воплощениях указанный по меньшей мере один антиген может представлять собой метапневмовирус человека.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложена поликлональная популяция антигенспецифических Т-клеток, которые распознают совокупность вирусных антигенов, содержащих по меньшей мере один антиген от каждого из вируса парагриппа типа 3 (PIV), респираторно-синцитиального вируса, вируса гриппа и человеческого метапневмовируса, а также донорские минибанки, как здесь описано, содержащие множество линий клеток, содержащих такие антигенспецифические Т-клетки. В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложена поликлональная популяция антигенспецифических Т-клеток, которые распознают совокупность вирусных антигенов, содержащую множество вирусных антигенов, содержащую по меньшей мере два антигена от каждого из вируса парагриппа типа 3 (PIV), респираторно-синцитиального вируса, вируса гриппа и метапневмовируса человека, а также донорские минибанки, как здесь описано, содержащие совокупность линий клеток, содержащих такие антигенспецифические Т-клетки.

В некоторых воплощениях указанная совокупность антигенов содержит антиген M PIV, антиген HN PIV, антиген N PIV, антиген F PIV, антиген NP1 вируса гриппа,

антиген MP1 вируса гриппа, антиген N RSV, антиген F RSV, антиген M hMPV, антиген M2-1 hMPV, антиген F hMPV и антиген N hMPV. В некоторых воплощениях указанная совокупость антигенов может быть выбрана из любого из антигена M PIV, антигена HN PIV, антигена N PIV, антигена F PIV, антигена NP1 вируса гриппа, антигена MP1 вируса гриппа, антигена N RSV, антигена F RSV, антигена M hMPV, антигена M2-1 hMPV, антигена F hMPV и антигена N hMPV.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены фармацевтические композиции, содержащие композиции, как здесь описано, приготовленные для внутривенной доставки. В некоторых воплощениях композиция, как здесь описано, является негативной в отношении бактерий. В некоторых воплощениях композиция, как здесь описано, является негативной в отношении грибков. В некоторых воплощениях композиция, как здесь описано, является негативной в отношении бактерий или грибков в течение по меньшей мере 1 суток, по меньшей мере 2 суток, по меньшей мере 3 суток, по меньшей мере 4 суток, по меньшей мере 5 суток, по меньшей мере 6 суток, по меньшей мере 7 суток, по меньшей мере 8 суток, по меньшей мере 9 суток, по меньшей мере 10 суток в культуре. В некоторых воплощениях композиция, как здесь описано, является негативной в отношении бактерий или грибков в течение по меньшей мере 7 суток в культуре.

В некоторых воплощениях фармацевтические композиции, приготовленные для внутривенной доставки, демонстрируют менее чем 1 EU/мл, менее чем 2 EU/мл, менее чем 3 EU/мл, менее чем 4 EU/мл, менее чем 5 EU/мл, менее чем 6 EU/мл, менее чем 7 EU/мл, менее чем 8 EU/мл, менее чем 9 EU/мл или менее чем 10 EU/мл эндотоксина. В некоторых воплощениях фармацевтические композиции, приготовленные для внутривенной доставки, являются негативными в отношении микоплазмы.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Конструирование донорского банка CMV-специфических VST (CMVST)

Отбор доноров для получения CMVST: для обеспечения того, чтобы могла бы быть предоставлена клинически эффективная линия для большей части популяции пациентов с аллогенным HSCT, авторы настоящего изобретения разработали алгоритм отбора доноров для выбора наилучших возможных доноров из данного пула доноров для получения продуктов клеточной терапии для данной популяции пациентов. Анализировали типы HLA 666 реципиентов аллогенного HSCT, которых лечили в

регионе Хьюстона (Houston Methodist Hospital или Texas Children's Hospital), которые имели разнообразный этнический состав, который схож с этническим составом Соединенных Штатов в целом. HLA указанных реципиентов HSCT затем сравнивали с типами HLA пула разнообразных, здоровых, удовлетворяющих критериям, серопозитивных в отношении CMV доноров. На исходной стадии (ФИГ. 2, стадия №1) тип HLA каждого из здоровых доноров в общем пуле доноров индивидуально сравнивали с типом HLA каждого из пациентов в пуле пациентов, и донора с наивысшим соответствием (также именуемого здесь «донором с наибольшим соответствием») идентифицировали как донора, который соответствовал по меньшей мере по 2 аллелям HLA наибольшему числу пациентов в указанном пуле пациентов (ФИГ. 2, стадия №2). Этого донора удаляли из общего пула доноров, и всех пациентов, которым подходил указанный донор (т.е. соответствующих по меньшей мере по 2 аллелям HLA данному донору) также удаляли от других несоответствующих пациентов в указанной популяции пациентов; таким образом, приводя к объединению доноров, обедненному на одного донора, и к популяции несоответствующих пациентов, обедненной на число пациентов, соответствущих первому донору по 2 или более чем 2 аллелям HLA (ФИГ. 2, стадия №3). Затем указанные стадии повторяли второй, третий и т.д. раз, каждый раз идентифицируя донора в остающемся пуле доноров, который соответствовал по меньшей мере по 2 аллелям HLA наибольшему числу пациентов, которые в указанное время оставались в популяции несоответствущих пациентов, и затем удаляя и того донора, и всех тех пациентов, соответствующих тому донору, из дальнейшего рассмотрения (ФИГ. 4-9), пока не образовалась группа доноров, которые охватывали (т.е. соответствовали по меньшей мере по 2 аллелям HLA) по меньшей мере 95% пациентов в анализируемой популяции пациентов (ФИГ. 10). Эту первую группу доноров откладывали для применения в конструировании первого минибанка специфических в отношении вируса Т-клеток.

В указанный момент всех пациентов, которые были удалены из популяции несоответствущих пациентов при конструировании первого донорского минибанка, повторно вводили в популяцию пациентов (но ни одного из ранее удаленных доноров не вводили повторно в общую популяцию доноров), и эту процедуру затем повторяли второй раз для идентификации второй группы доноров, которая охватывала (т.е. соответствовали по меньшей мере по 2 аллелям HLA) по меньшей мере 95% пациентов в анализируемой популяции пациентов для создания второго донорского минибанка.

Это обеспечивало то, что пациенты имели бы более чем одного возможного потенциального хорошо соответствующего донора в дискретных донорских минибанках. С использованием этой модели обнаружили, что лишь 8 хорошо отобранных доноров обеспечили бы более чем 95% популяции пациентов Т-клеточным продуктом, который соответствовал по меньшей мере по 2 антигенам HLA; и в данном случае дальнейшее увеличение пула доноров не увеличивало значимо число соответствий. Восемь из этих доноров затем отбирали для обеспечения охвата подходящей линии CMVST (2 или более чем 2 общих антигена HLA) с подтвержденной активностью к CMV в отношении 95% или более чем 95% этой разнообразной популяции реципиентов аллогенного HSCT.

Получение банка CMVST сторонних лиц: все доноры дали письменное информированное согласие по одобренному протоколу IRB (Международный реестр биологической безопасности) и удовлетворяли критериям соответствия банка крови. Для изготовления отбирали единицу крови посредством взятия периферической крови, и PBMC выделяли посредством градиента фиколла. 10×10^6 PBMC высевали в биореактор G-Rex 5 (Wilson Wolf, Minneapolis, MN) и культивировали в среде для Т-клеток [усовершенствованная RPMI 1640 (HyClone Laboratories Inc. Logan, Utah), 45% Click's (Irvine Scientific, Santa Ana, CA), 2 мМ GlutaMAX™] TM-I (Life Technologies Grand Island, NY) и 10% фетальной телячей сыворотки (Hyclone)], содержащей 800 U/мл IL4 и 20 нг/мл IL7 (R&D Systems, Minneapolis, MN) и IE1, смеси пептидов pp65 (2 нг/пептида/мл) (JPT Peptide Technologies Berlin, Германия). В сутки 9-12 после инициации Т-клетки отбирали, подсчитывали и повторно стимулировали аутологическими облученными PBMC, подвергавшимися импульсному воздействию смеси пептидов [эффектор:мишень (E:T) 1:4 – 4×10^5 CMVST: $1{,}6\times10^6$ облученных PBMC/см^2], с IL-4 (800 U/мл) и IL-7 (20 нг/мл) в G-Rex-100M. В сутки 3-4 культивирования данные клетки подпитывали 200 нг/мл IL-2 (Prometheus Laboratories, San Diego, CA), и через 9-12 суток после второго введения Т-клетки отбирали для криоконсервирования. Во время криоконсервирования каждую линию анализировали микробиологически, иммунофенотипировали [CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, CD25, CD27, CD28, CD45, CD45RA, CD56, CD62L CD69, CD83, HLA DR и 7AAD (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)] и оценивали на вирусоспецифичность посредством анализа IFNγ методом иммуноферментных пятен (ELISpot). Линию клеток

определяли как «реактивную», когда частота реактивных клеток, при измерении анализом IFNγ ELISpot, составляла более 30 клеток, образующих пятна (SFC)/2×10^5 вирусоспецифических Т-клеток на входе.

Схема клинического испытания: это было одноцентровое исследование фазы I (NCT02313857), проведенное согласно IND (исследование нового лекарственного средства) от Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) и одобренное Медицинским институциональным наблюдательным советом (IRB) Baylor College. Указанное исследование было открытым для реципиентов аллогенной HSCT с инфекциями CMV или заболеванием, которое сохранялось в течение по меньшей мере 7 суток, несмотря на стандартную терапию, определенную как лечение ганцикловиром, фоскарнетом или цидофовиром. Критерии исключения включали лечение преднизоном (или эквивалентом) 0,5 мг/кг или более, дыхательную недостаточность с насыщением кислородом менее 90% на комнатном воздухе, другие неконтролируемые инфекции и активную GVHD степени II или больше. Из участия также исключали пациентов, которые получали ATG, кампат, другие иммуносупрессивные моноклональные антитела на Т-клетки или инфузию донорских лимфоцитов (DLI) в пределах 28 суток от предложенной даты введения. Пациенты исходно давали их согласие на поиск подходящей линии VST (с 2 или более чем 2 общими антигенами HLA) и, при доступности, и если пациенты удовлетворяли критериям соответствия, они могли быть зарегистрированы в части исследования с лечением. Каждый пациент получал одну внутривенную инфузию 2×10^7 частично соответствующих по HLA VST/м^2 с возможностью получения второй инфузии после 4 недель и дополнительных инфузий с двухнедельными интервалами далее. Терапию стандартными противовирусными лекарственными средствами можно было вводить по решению лечащего врача.

Ожидаемые результаты по безопасности: первичной задачей данного пилотного исследования было определение безопасности CMVST у реципиентов HSCT со стойкими инфекциями CMV/заболеванием. Токсичности ранжировали по Общим терминологическим критериям наблагоприятных явлений NCI (Национальный институт онкологии США) (CTCAE), версии 4.X. Ожидаемые результаты по безопасности включали острую GvHD степеней III-IV в пределах 42 суток после последней дозы CMVST, связанные с инфузией токсичности в пределах 24 часов

инфузии или негематологические нежелательные явления степеней 3-5, связанные с Т-клеточным продуктом, в пределах 28 суток после последней дозы CMVST и не приписываемые предсуществующей инфекции, исходное злокачественное заболевание или предсуществующие сопутствующие заболевания. Острую и хроническую GVHD, если она присутствовала, ранжировали согласно стандартным клиническим определениям. 1,2 Указанное исследование отслеживал Комитет по оценке данных Dan L. Duncan Cancer Center.

Оценка результатов: нагрузки CMV в периферической крови отслеживали посредством количественной PCR (полимеразной цепной реакции) (qPCR) в лабораториях, одобренных поправками к программам усовершенствования клинических лабораторных исследований (CLIA). Полный ответ (CR) вируса на лечение был определен как снижение вирусной нагрузки до уровня ниже порога выявления посредством qPCR и устранение клинических признаков и симптомов заболевания ткани (если оно присутствует в исходный момент времени). Частичный ответ (PR) был определен как уменьшение вирусной нагрузки по меньшей мере 50% от исходного уровня. Клинические и вирологические ответы определяли в неделю 6 после инфузии CMVST.

Иммуномониторинг: для определения частоты циркулирующих Т-клеток, которые секретировали IFN_{γ} в ответ на антигены и пептиды CMV, использовали анализ ELISpot. Клинические образцы отбирали до и в недели 1, 2, 3, 4, 6 и 12 после инфузии. В качестве положительного контроля, PBMC стимулировали стафилококковым энтеротоксином B (1 мкг/мл) (Sigma-Aldrich Corporation, St Louis, MO). Смеси пептидов IE1 и pp65 (JPT Technologies, Берлин, Германия), разведенные до 1000 нг/пептида/мл, использовали для отслеживания имеющих происхождение от донора CMVST после инфузии. При доступности в анализах ELISpot также использовали пептиды, представляющие известные эпитопы (Genemed Synthesis Inc., San Antonio, TX, разведенный до 1250 нг/мл). Для анализов ELISpot PBMC ресуспендировали в количестве 5×10^6/мл в среде для Т-клеток и высаживали в 96-луночные планшеты ELISpot. Каждое условие прогоняли в двойной повторности. После 20 часов инкубации планшеты проявляли, как описано ранее, сушили в течение ночи при комнатной температуре в темноте и затем высылали в Zellnet Consulting (New York, NY) для количественного измерения. Откладывали на графике число клеток, образующих пятна

интерферона-γ (SFC), и число клеток на входе, а частоту Т-клеток, специфических в отношении каждого антигена, выражали в виде отношения числа специфических SFC на число клеток на входе.

Статистический анализ: для обобщения данных рассчитывали описательную статистику. Обобщали противовирусные ответы и оценивали коэффициент ответа, наряду с точными 95%-ными биномиальными доверительными интервалами. Данные по вирусной нагрузке и частоте Т-клеток откладывали на графике для графической иллюстрации картин иммунных ответов с течением времени. Сравнения изменений вирусной нагрузки и частоты Т-клеток до и после инфузии проводили с использованием рангового критерия Уилкоксона. Данные анализировали с использованием системы SAS (Cary, NC) версии 9,4 и R версии 3.2.1. Значения P меньше 0,05 считали статистически значимыми.

Результаты

Банк CMVST сторонних лиц: банк CMVST получали от 8 серопозитивных в отношении CMV доноров, выбранных так, чтобы представлять разнообразный профиль HLA популяции, повергающейся трансплантации (**Таблица 1**). Медианное количество $7{,}7\times10^8$ PBMC (интервал $4{,}6\text{-}8{,}8\times10^8$) выделяли из одного отбора крови (медианный объем – 425 мл). Для размножения CMVST PBMC подвергали воздействию смесей пептидов, охватывающих pp65 и IE1, и на протяжении 20 суток в культуре достигалась средняя кратность размножения 102 плюс/минус 12 (**ФИГ. 17А**). Образующиеся в результате клетки были почти исключительно CD3+ (99,3 плюс/минус 0,4%), включая поднаборы и CD4+ (21,3 плюс/минус 7,5%), и CD8+ (74,7 плюс/минус 7,8%), которые экспрессировали центральные CD45RA-/62L+ (58,5 плюс/минус 4,8%) и эффекторные CD45RA-/62L- (35,3 плюс/минус 4,6%) маркеры памяти (**ФИГ. 17Б**). Все 8 линий были реактивными против стимулирующих антигенов CMV (IE1 419 плюс/минус 100 SFC/2×10^5 и pp65 1069 плюс/минус 230, **ФИГ. 17В**). В Таблице 1 обобщены характеристики линий клеток. Из этих 8 линий 6 продуктов вводили 10 подвергавшимся лечению исследуемым пациентам.

Скрининг: 29 реципиентов аллогенных HSCT с инфекциями CMV были направлены их первичными поставщиками BMT (трансплантат костного мозга) для участия в исследовании, и из банка 8 линий идентифицировали подходящий продукт (минимальный порог соответствия 2/8 HLA) для инфузии в 28 случаях (96,6%; 95%-

ный CI (доверительный интервал): 82,2% - 99,9%). Порог соответствия 2/8 HLA был установлен на основе ретроспективного анализа, выполненного на предыдущем исследовании сторонних лиц, которое продемонстрировало клиническую пользу, ассоциированную с введением продуктов с таким соответствием HLA. Соответствие HLA класса I или класса II, по-видимому, не влияет на результат. Примечательно то, что в настоящем исследовании большинство продуктов соответствовало по 4 или более чем 4 антигенам (**ФИГ. 18Г**). Из 28 пациентов с доступными линиями 17 пациентов не получали клеток, так как они отвечали на стандартное противовирусное лечение, и один пациент не удовлетворял критериям из-за недавней DLI.

Характеристики подвергавшихся лечению пациентов: характеристики 10 пациентов (педиатрические n равно 7 и взрослые n равно 3), подвергавшихся лечению из-за стойких инфекций, обобщены в **Таблице 2**, и они включали 2 афроамериканских реципиентов, 3 белых испаноязычных пациентов и 5 неиспаноязычных европеоидных реципиентов. У трех из указанных 10 пациентов было подтверждено ассоциированное с вирусом заболевание [CMV ретинит (n равно 1), диарея, приписываемая CMV колиту (n равно 2)]. CMVST (соответствующие по 2-6/8 антигенов HLA) вводили между сутками 46 и 365 (медианные сутки 133) после трансплантации. Семь пациентов имели инфекции, которые не поддавались стандартному противовирусному лечению в течение медианной продолжительности 24 суток (среднее 48 суток; интервал от 14 до 211 суток), и 3 из указанных пациентов имели вирусы с мутациями, которые придавали устойчивость к традиционным противовирусным средствам. Перед иммунотерапевтическим вмешательством 6 из указанных пациентов испытывали тяжелые нежелательные события (SAE), ассоциированные с традиционными противовирусными средствами, которые включали острую почечую недостаточность (n равно 4), индуцированную фоскарнетом почечную тубулопатию (n равно 1) и тяжелый ассоциированный с фоскарнетом панкреатит (n равно 1), которые в 3 случаях исключали дальнейшее лечение любыми традиционными лекарственными средствами.

Клиническая безопасность: все инфузии хорошо переносились. За исключением одного пациента, у которого через 8 часов после инфузии развилась транзиторная изолированная лихорадка, не наблюдали немедленных токсичностей. У одного пациента развилась умеренная пятнисто-папулезная сыпь на его туловище, что, по-видимому, свидетельствовало о вирусной экзантеме, и она спонтанно разрешилась в пределах нескольких суток без местного или системного лечения. Не наблюдали

синдрома высвобождения цитокинов (CRS) или других токсичностей, связанных с инфундированными CMVST, и ни у одного из пациентов не развивались отторжение трансплантата, аутоиммунная гемолитическая анемия или микроангиопатия, ассоциированная с трансплантацией. Пациентов отслеживали в течение 6 недель в отношении острой GvHD и 12 месяцев в отношении хронической GvHD. Несмотря на несоответствие HLA между пациентами и инфундированными клетками, ни у одного из пациентов не развивалась рецидивирующая или образующаяся *de novo* острая или хроническая GvHD после лечения (Таблица 3), включая 3 пациентов с предыдущей историей острой GvHD [степени II (n равно 2) или III (n равно 1)].

Клинические ответы: все 10 пациентов после инфузии отвечали на CMVST с 7 CR и 3 PR с совокупным показателем ответа 100% (95%-ный CI: 69,2-100,0%) к неделе 6. Среднее снижение вирусной нагрузки в плазме в неделю 6 составляло 89,8% (плюс/минус 21,4%). На Фиг. 18 обобщены вирологические результаты всех подвергавшихся лечению пациентов на основе последовательных измерений вирусной нагрузки. Примечательно то, что клиническая польза достигалась не только у пациентов с трудно поддающимися лечению инфекциями, но также и у 3 индивидов с заболеванием ткани [CMV ретинит (n равно 1), диарея, приписываемая CMV колиту (n равно 2)].

Восемь пациентов получали одну инфузию CMVST, 1 пациент (3976) имел 2 инфузии, и 1 (4201) имел 3 инфузии CMVST. Пациент 3976 имел CR в неделю 6, но имел рецидив с возрастающими вирусными нагрузками в неделю 10. Через восемьдесят суток после первой инфузии он получал вторую инфузию той же самой линии CMVST, которая приводила к стойкому CR. Пациент 4201 получал вторую инфузию такой же CMVST через 28 суток после исходного введения, но у него не было ответа и, следовательно, 2 неделями позднее ему вводили третью инфузию другой линии CMVST, и у него достигался стойкий CR. Клинические и вирологические ответы, достигаемые у этих пациентов, были ассоциированы с увеличением реагирующих на вирус CMVST у 8 из 10 подвергавшихся лечению пациентов [увеличение от среднего 126 плюс/минус 84 SFC до инфузии до пика – 443 плюс/минус 178 на 5×10^5 PBMC (p равно 0,023; **ФИГ. 19А**)].

Стойкость Т-клеток: для оценки того, способствовали ли инфузии CMVST защитным эффектам, наблюдаемым у этих пациентов, и для оценки долговечности *in*

vivo данных VST с частичным соответствием HLA, специфичность CMVST проверяли у PBMC пациента до и после инфузии с использованием HLA-ограниченных эпитопных пептидов, ограниченных инфундированной линией. Функциональные Т-клетки с подтвержденным происхождением от сторонних лиц выявляли у 5 пациентов, для которых были доступны пептидные реактивы, осуществляющие рестрикцию HLA, которые сохранялись в течение вплоть до 12 недель; у всех 8 пациентов наблюдали противовирусные ответы, ограниченные общими аллелями HLA между пациентом и линией CMVST (**ФИГ. 19Б**). Таким образом, подразумевается, что инфундированные CMVST индуцировали противовирусный эффект, приводящий к контролю инфекций CMV.

В испытании фазы I CMVST сторонних лиц вводили для лечения инфекций/заболевания, вызванного CMV, у реципиентов аллогенной HSCT, которые не имели успеха по меньшей мере 14-суточного лечения ганцикловиром и/или фоскарнетом, или не могли переносить стандартные противовирусные лекарственные средства. Примечательными критериями исключения были пациенты с активной GvHD или получающие кортикостероиды в умеренных или высоких дозах. Банк CMVST получали лишь от 8 здоровых доноров, которых тщательно отбирали на основе их профиля HLA для обеспечения широкого покрытия в отношении расово и энтически разнообразной популяции пациентов с аллогенной HSCT. В самом деле, из 29 пациентов, подвергавшихся скринингу для участия в исследовании, идентифицировали подходящую линию (порог минимум 2 общих антигена HLA) для 28 (96,6%; 95%-ный CI: 82,2-99,9%), подтверждая возможность обеспечения широкого покрытия пациентов с использованием маленького, хорошо подобранного банка клеток. Из этих 28 пациентов 10 разного происхождения (2 афроамериканского, 3 белых испаноязычных и 5 неиспаноязычных европеоидов) лечили, и у всех достигалась вирологическая и клиническая польза без испытания острой или хронической GvHD или других токсичностей. Это было примечательным, так как 6 ранее испытывали серьезные нежелательные события, включающие острую почечную недостаточность, почечную тубулопатию и панкреатит, связанные с традиционными противовирусными лекарственными средствами. Указанное испытание фазы I демонстрирует безопасность и клиническую пользу, ассоциированные с введением реагирущих на вирус Т-клеток сторонних лиц, полученных из маленького и тщательно сконструированного донорского банка, для лечения трудно поддающихся лечению инфекций CMV.

Несмотря на снижающиеся коэффициенты заболеваемости в последние десятилетия, CMV остается главной причиной заболеваемости после аллогенной HSCT; в недавнем докладе CIBMTR (Центр международных исследований трансплантации клеток крови и костного мозга), где были исследованы данные от 9469 пациентов [с трансплантациями с 2003 по 2010 гг. из-за AML (n равно 5310), ALL (n равно 1883), CML (n равно 1079) и MDS (n равно 1197)], реактивация CMV была ассоциирована с более высокой нерецидивной смертностью, а также с меньшим общим выживанием среди всех 4 категорий заболеваний.

Кроме того, в недавнем исследовании 208 пациентов с трансплантацией с 2008 до 2013 гг. обнаружили, что средняя продолжительность пребывания в больнице продлевалась на 26 суток у пациентов с реактивацией CMV, тогда как появление более чем одного эпизода реактивации CMV увеличивало затраты на аллогенную HSCT на 25-30% (p меньше 0,0001), подчеркивая экономическое бремя тактики лечения CMV.

Фоскарнет и ганцикловир часто используют для лечения инфекций CMV после HSCT. Однако, помимо ганцикловира для вызванного CMV ретинита, их применение находится вне зарегистрированных показаний, и оба лекарственных средства ассоциированы со значительными побочными эффектами, особенно почечным заболеванием и подавлением трансплантата. При профилактическом применении летермовир – ингибитор комплекса ДНК-терминазы цитомегаловируса – снижал частоту инфекции/реактивации CMV после трансплантации, и с момента одобрения FDA (для профилактики CMV у взрослых пациентов с HSCT) в 2017 г., все чаще и чаще используется у пациентов с высоким риском. Однако Рабочая группа по резистентности CMV мультидисциплинарного форума по разработке лекарственного средства против CMV ожидает, что более широкое профилактическое применение летермовира увеличит появление организмов, которые являются резистентными к традиционным противовирусным средствам, если действительно случается прорывная инфекция CMV. В самом деле, все чаще и чаще сообщают о резистентных к летермовиру штаммах CMV, и клинические исходы у пациентов с резистентным заболеванием являются плохими и ассоциированными с прогрессирующим заболеванием ткани и смертностью.

CMVST предоставляют альтернативную стратегию для нацеливания как на исходные реактивации, так и на резистентные к лекарственному средству вирусные штаммы, как ранее сообщала группа авторов изобретения и другие группы. В самом

деле, 30% пациентов, подвергавшихся лечению CMVST в настоящем исследовании, были инфицированы вирусными штаммами с подтвержденной резистентностью к одному или более чем одному традиционному противовирусному лекарственному средству.

Одной задачей настоящего исследования было получение банка CMV-специфических Т-клеток с достаточным разнообразием для покрытия большинства реципиентов аллогенного HSCT, рекомендованного для лечения. Таким образом, типы HLA более чем 600 реципиентов аллогенного HSCT перспективно сравнивали с пулом разнообразных, здоровых, удовлетворяющих критериям (серопозитивные в отношении CMV) доноров, от которых могли бы быть получены CMVST, для идентификации минимальной когорты, которая предоставила бы пациентам хорошо соответствующие продукты. С использованием этой модели обнаружили, что только 8 хорошо отобранных доноров обеспечили бы более 95% популяции пациентов Т-клеточным продуктом, который соответствовал по меньшей мере по 2 антигенам HLA; дальнейшее увеличение пула доноров не увеличило бы значимо число соответствий. Настоящее исследование, в котором подходящую линию идентифицировали для 28 из 29 пациентов (96,5%), подвергавшихся скринингу на участие в клиническом исследовании, поддерживает теорию о том, что такой донорский банк мог бы эффективно снабжать большую часть популяции пациентов с аллогенным HSCT.

Расовое и этническое разнообразие сравнивали в пределах популяции пациентов с трансплантатами с разнообразием населения США с трансплантатами (**Таблица 4**). Это выявило, что разнообразие в пределах популяции пациентов авторов настоящего изобретения было аналогичным, если не немного большим, чем среди населения США. Это свидетельствует о том, что маленький банк клеток, разработанный для настоящего исследования, мог бы широко применяться для клинического применения по всей стране. Универсальное применение проанализированных CMVST по центрам трансплантации делается более возможным способностью продуцировать достаточно материала для получения клеток для более чем 2000 инфузий от одного набора доноров. Таким образом, можно было бы рассматривать децентрализованную модель распространения готовых реактивных в отношении вируса Т-клеток сторонних лиц, обеспечивая доступность клеток по требованию.

В заключение, эти данные указывают на то, что хорошо охарактеризованный банк CMV-реактивных Т-клеток, полученных лишь от 8 хорошо отобранных сторонних

доноров, может снабжать большинство пациентов с трудно поддающимися лечению инфекциями CMV подходящим образом соответствующей линией, которая может обеспечивать безопасную и эффективную противовирусную активность.

Таблица 1. Характеристики полученных линий VST

Линия VST (C№)	Специфичность к CMV SFC/1×10^5 IE1	Специфичность к CMV SFC/1×10^5 pp65	CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD56 (%)	CD45RO+/CD62L+ (%)	CD45RO+/CD62L- (%)	HLA-A	HLA-B	HLA-DR	HLA-DQ	Число пациентов, подвергавшихся скринингу *	Число пациентов, подвергавшихся лечению
6790	127	1186	97,81	74,23	19,48	3,88	75,45	16,33	02,33	15,44	07,13	02,06	4	3
6798	612	805	98,79	17,75	75,73	4,05	40,3	44,83	02,02	40,52	04,08	03,03	6	4
6802	113	1354	99,66	5,20	92,82	1,69	69,75	27,51	11,23	35,57	01,07	03,05	1	0
6808	827	986	99,77	12,59	83,18	3,10	74,09	20,13	02,24	40,52	04,13	03,06	4	1
6814	639	2573	99,68	28,25	69,85	0,99	41,56	55,78	2, 24	8, 14	01, 03	02,05	1	1
6823	700	717	99,39	10,99	86,49	1,51	47,59	48,59	11,68	07,35	03,07	02,02	3	1
6834	128	725	99,77	15,40	82,90	2,27	64,64	32,72	02,24	15,35	04,09	03,03	6	1
6838	205,5	211	99,75	5,57	87,46	8,76	54,50	36,42	02,30	13,35	07,08	02,06	1	0

SFC – клетки, образующие пятна; * - указывает, как часто линии VST определялись как самая подходящая линия для подвергавшегося скринингу пациента.

Таблица 2. Характеристики пациентов

ID № пациента	**Возраст**	**Этническая принадлежность**	**Раса**	**Диагноз**	**Тип трансплантата**	**Серостатус CMV R/D**	**Число инфузий**	**Сутки после трансплантации**
3910	12	Неиспаноязычный	Афроамериканская	Серповидноклеточная анемия	MRD	Отр./Пол.	1	61
3944	45	Испаноязычный	Белая	AML	UCB	Пол./Отр.	1	197
3976	13	Испаноязычный	Белая	ALL	MUD	Пол./Пол.	2	46

3762	10	Испано-язычный	Белая	HLH	MMUD	Пол./Отр.	1	161
3967	51	Неиспано-язычный	Белая	AML	UCB	Пол./Отр.	1	365
4091	70	Неиспано-язычный	Белая	CTCL	Гапло	Пол./ Пол.	1	215
4115	3	Неиспано-язычный	Белая	Анемия Фанкони	MUD	Пол./ Пол.	1	105
4170	3	Неиспано-язычный	Афроаме-риканская	Серповид-ноклеточ-ная анемия	MRD	Отр./Пол.	1	76
4134	16	Неиспано-язычный	Белая	SCID	MUD	Пол./Пол.	1	218
4201	11	Неиспано-язычный	Белая	Анапласти-ческая крупнокле-точная лимфома	MUD	Пол./Отр.	3	70

AML: острый миелоидный лейкоз, ALL: острый лимфобластный лейкоз, HLH: гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, CTCL: кожная Т-клеточная лимфома, SCID: тяжелый комбинированный иммунодефицит, MRD: соответствующий родственный донор, UCB: кровь из пуповины, MUD: соответствующий неродственный донор, MMUD: несоответствующий неродственный донор, Гапло: Гаплоидентичный, R/D: реципиент/донор, AKI: острая почечная недостаточность, CR: полный ответ, PR: частичный ответ, AdV: аденвирус.

Таблица 3. GvHD до и после инфузии

ID № пациента	GvHD до	Исходный уровень	Rx/PPx GvHD в момент инфузии	aGvHD	cGvHD
3910	Нет	Нет	циклоспорин	Нет	Нет
3944	Нет	Нет	такролимус	Нет	Нет
3976	Нет	Нет	такролимус	Нет	Нет
3762	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
3967	GI степени II	Нет	сиролимус	Нет	Нет
4091	GI кожи	Нет	такролимус	Нет	Нет

	степени II				
4115	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет
4170	Нет	Нет	такролимус	Нет	Нет
4134	GI степени III	Нет	Нет	Нет	Нет
4201	Нет	Нет	такролимус	Нет	Нет

aGvHD: острое заболевание «трансплантат против хозяина», cGvHD: хроническое заболевание «трансплантат против хозяина», GI: желудочно-кишечное, Rx: лечение, PPx: профилактика.

Таблица 4. Расовое разнообразие реципиентов аллогенных HSCT. В анализе по США всего представлено 174 центра Программы трансплантации. Каждый из этих центров провел по меньшей мере одну трансплантацию с использованием неродственного или родственного донора на протяжении трехлетнего периода времени с 1 января 2013 г. до 31 декабря 2015 г.

Раса пациента	**США (2013-2015) число (%)**	**Baylor CCGT (2014-2018) число (%)**
Белая	19600 (82%)	608 (74,8%)
Черная или афроамериканцы	2162 (9%)	141 (17,3%)
Азиатская	1022 (4%)	49 (6,0%)
С островов Тихого океана	65 (<1%)	2 (<1%)
Американские индейцы или коренное население Аляски	133 (1%)	10 (1,2%)
Смешанная раса[a]	160 (1%)	н/д
Неизвестная	704 (3%)	н/д
Всего	23846 (100%)	810 (100%)

Пример 2. Получение Т-лимфоцитов, специфических в отношении многих вирусов, для предупреждения и лечения респираторных вирусных инфекций

Группа авторов настоящего изобретения ранее продемонстрировала, что адоптивный перенос размноженных *in vitro* вирусоспецифических Т-клеток (VST) может безопасно и эффективно предупреждать и лечить инфекции, ассоциированные как с латентными [вирус Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV), вирус BK (BKV), герпесвирус 6 человека (HHV6)], так и с литическими [аденовирус (AdV)] вирусами у реципиентов аллогенного HSCT. Принимая во внимание то, что

чувствительность к CARV ассоциирована с лежащим в основе клеточным иммунодефицитом, в настоящем исследовании авторы настоящего изобретения изучали возможность расширения терапевтического интервала терапии VST с включением вируса гриппа, RSV, hMPV и PIV.

Авторы настоящего изобретения описали механизм, посредством которого может быть быстро получен один препарат поликлональных (CD4+ и CD8+) VST со специфичностью в отношении 12 иммунодоминантных антигенов, имеющих происхождение от 4 вирусов-мишеней авторов настоящего изобретения, с использованием методологий изготовления, согласующихся с GMP. Вирусные белки, используемые для стимуляции, были выбраны на основе как их иммуногенности в отношении Т-клеток, так и консервативности их последовательности. Размноженные клетки являются Th1-поляризованными, полифункциональными и способны селективно реагировать и уничтожать клетки-мишени, экспрессирущие вирусный антиген, без активности против неинфицированных аутологических или аллогенных мишеней, аттестованными как на их селективность в отношении вирусных мишеней, так и на их безопасность для клинического применения.

В данном исследовании авторы настоящего изобретения подвергали PBMC от здоровых доноров воздействию коктейля смесей пептидов (библиотеки перекрывающихся пептидов), охватывающих иммуногенные антигены от определенных целевых вирусов [вирус гриппа – NP1 и MP1; RSV – N и F; hMPV – F, N, M2-1 и M; PIV – M, HN, N и F], с последующим размножением в присутствии активирующих цитокинов в G-Rex. В течение 10-13 суток авторы настоящего изобретения достигли среднего 8,5-кратного размножения (увеличение от $0{,}25\times10^7$ PBMC/см^2 до в среднем 1,9 плюс/минус $0{,}2\times10^7$ клеток/см^2; n равно 12).

Вкратце, PBMC получали от здоровых добровольцев и реципиентов HSCT с информированным согласием с использованием протоколов, одобренных IRB Baylor College of Medicine (H-7634, H-7666), и использовали для получения бластных клеток с фитогемагглютинином (PHA) и мульти-R-VST. Бластные клетки с PHA получали, как описано ранее, и культивировали в среде VST [45% RPMI 1640 (HyClone Laboratories, Logan, Юта), 45% среды Click (Irvine Scientific, Santa Ana, Калифорния), 2 мМ GlutaMAX TM-I (Life Technologies, Grand Island, Нью-Йорк) и 10% человеческой сыворотки AB (Valley Biomedical, Winchester, Вирджиния)], дополненной

интерлейкином 2 (IL2) (100 U/мл; NIH, Bethesda, Мэриленд), которую пополняли каждые 2 суток.

Для получения мульти-R-VST получали смеси пептидов. Вкратце, PBMC стимулировали библиотеками пептидов (15-меры, перекрывающиеся на 11 ак (аминокислота)), охватывающих вирус гриппа A (NP1, MP1), RSV (N, F), hMPV (F, N, M2-1, M) (JPT Peptide Technologies, Берлин, Германия) и антигенами PIV (M, HN, N, F) (Genemed Synthesis, San Antonio, TX). Лиофилизированные смеси пептидов растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) (Sigma-Aldrich) и хранили при -80°C. Для получения мульти-R-VST PBMC ($2,5\times10^7$) переносили в G-Rex10 (Wilson Wolf Manufacturing Corporation, St. Paul, MN) со 100 мл среды VST, дополненной IL7 (20 нг/мл), IL4 (800 U/мл) (R&D Systems, Minneapolis, MN) и смесями пептидов (2 нг/пептид/мл), и культивировали в течение 10-13 суток при 37°C, 5% CO_2.

Затем осуществляли проточную цитометрию для мульти-R-VST, которые были поверхностно окрашены моноклональными антителами к следующим: CD3, CD25, CD28, CD45RO, CD279 (PD-1) [Becton Dickinson (BO), Franklin Lakes, NJ], CD4, CD8, CD16, CD62L, CD69 (Beckman Coulter, Brea, CA) и CD366 (TIM-3) (Biolegend, San Diego, CA). Клетки получали на проточном цитометре Gallios™ и анализировали с использованием программы Kaluza® Flow Analysis (Beckman Coulter). В частности, клетки осаждали в забуференном фосфатом физиологическом растворе (PBS) (Sigma-Aldrich), затем добавляли антитела в насыщающих количествах (5 мкл) с последующей инкубацией в течение 15 мин при 4°C. Затем клетки промывали, ресуспендировали в 300 мкл PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор), и по меньшей мере 20000 живых клеток получали на проточном цитометре Gallios™ и анализировали с использованием программы Kaluza® Flow Analysis (Beckman Coulter).

Для внутриклеточного окрашивания на цитокины мульти-R-VST отбирали, ресуспендировали в среде VST (2×10^6/мл), и 200 мкл добавляли на лунку 96-луночного планшета. Клетки инкубировали в течение ночи с 200 нг индивидуальных опытных или контрольных смесей пептидов, наряду с брефельдином A (1 мкг/мл), моненсином (1 мкг/мл), CD28 и CD49d (1 мкг/мл) (BD). Затем VST промывали PBS, осаждали, поверхностно окашивали с использованием CD8 и CD3 (5 мкл/антитела/пробирку) в течение 15 мин при 4°C, затем промывали, осаждали, фиксировали и пермеабилизировали раствором Cytofix/Cytoperm (BD) в течение 20 мин при 4°C в

темноте. После промывки буфером для пермеабилизации/промывки (BD) клетки инкубировали с 10 мкл антител против IFNγ и TNFα (BD) в течение 30 минут при 4°C в темноте. Клетки затем дважды промывали буфером для пермеабилизации/промывки, по меньшей мере 50000 живых клеток получали на проточном цитометре Gallios™ и анализировали с использованием программы Kaluza® Flow Analysis.

Окрашивание на FoxP3 осуществляли с использованием набора eBioscience FoxP3 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) согласно инструкциям изготовителей. Вкратце, 1×10^6 клеток поверхностно окрашивали антителами против CD3, CD4 и CD25, затем промывали, ресуспендировали в 1 мл буфера для фиксации/пермеабилизации и инкубировали в течение 1 часа при 4°C в темноте. После промывки PBS клетки ресуспендировали в буфере для пермеабилизации, инкубировали с 5 мкл изотипического антитела или антитела FoxP3 (клон PCH101) в течение 30 минут при 4°C, затем промывали и получали сигнал на проточном цитометре Gallios™, с последующим анализом с использованием программы Kaluza® Flow Analysis.

Для количественного измерения частоты клеток, секретирующих IFN_γ и гранзим B, использовали анализ методом иммуноферментных пятен (ELIspot). Вкратце, PBMC, магнитно отобранные субпопуляции T-клеток и мульти-R-VST ресуспендировали в количестве 5×10^6 или 2×10^6 клеток/мл в среде VST, и 100 мкл клеток добавляли в каждую лунку ELIspot. Отбор клеток проводили с использованием магнитных шариков и колонок для разделения LS (Miltenyi Biotec, GmbH) согласно инструкциям изготовителя. Антигенспецифическую активность измеряли после непосредственной стимуляции (500 нг/пептид/мл) индивидуальными стимулирующими [NP1, MP1 (вирус гриппа); N, F (RSV); F, N, M2-1, M (hMPV); M, HN, N, F (PIV)] или контрольными смесями пептидов (сурвивин, WT1). Стафилококковый энтеротоксин B (SEB) (1 мкг/мл) и PHA (1 мкг/мл) использовали в качестве позитивных контролей для PBMC и VST соответственно. После 20 часов инкубации планшеты проявляли, как описано ранее, сушили в течение ночи при комнатной температуре и затем высылали в Zellnet Consulting (Нью-Йорк) для количественного измерения. Число клеток, образующих пятна (SFC), и число клеток на входе откладывали на графике, и порог специфичности в отношении VST определяли как 30 или более чем 30 SFC/2×10^5 клеток на входе.

Цитокиновый профиль мульти-R-VST оценивали с использованием высокочувствительного набора для человеческих цитокинов MILLIPLEX (Millipore,

Billerica, MA). 2×10^5 VST стимулировали смесями пептидов (NP1, MP1, N, F, F, N, M2-1, M, M, HN, N и F) (1 мкг/мл) в течение ночи. Затем супернатант отбирали, переносили в лунки планшета в двойной повторности, инкубировали в течение ночи при 4°C с шариками с иммобилизованным антителом, затем промывали и переносили в планшет на 1 час при комнатной температуре с биотинилированными выявляющими антителами. Наконец, добавляли стрептавидин-фикоэритрин на 30 минут при комнатной температуре. Образцы промывали и анализировали на Luminex 200 (XMAP Technology) с использованием программы xPONENT.

Использовали анализ высвобождения хрома. Вкратце, использовали стандартный 4-часовой анализ высвобождения хрома (Cr_{51}) для измерения удельной цитолитической активности мульти-R-VST с аутологическими загруженными антигеном PHA бластными клетками в качестве мишеней (20 нг/смесь пептидов/1×10^6 клеток-мишеней). Для анализа специфического лизиса использовали отношения эффектор:мишень (E:T) 40:1, 20:1, 10:1 и 5:1. Рассчитывали процентную долю специфического лизиса [(экспериментальное высвобождение – спонтанное высвобождение)/(максимальное высвобождение - спонтанное высвобождение)] × 100. Для того, чтобы измерять аутореактивный и аллореактивный потенциал линий мульти-R-VST, в качестве мишеней использовали одни аутологические и аллогенные PHA бластные клетки.

Получение поликлональных мульти-R-VST от здоровых доноров

Для исследования возможности получения VST-специфических линий Т-клеток, содержащих субпопуляции клеток, реагирующих против вируса гриппа, RSV, hMPV и PIV, авторы настоящего изобретения использовали пул библиотек перекрывающихся пептидов, охватывающих иммуногенные антигены от каждого из вирусов-мишеней [вирус гриппа – NP1 и MP1; RSV – N и F; hMPV – F, N, M2-1 и M; PIV – M, HN, N и F], для стимуляции PBMC перед культивированием в G-Rex10 в дополненной цитокинами среде для VST [**ФИГ. 20А**]. На протяжении 10-13 суток авторы настоящего изобретения достигали в среднем 8,5-кратного увеличения числа клеток [**ФИГ. 20Б**] [увеличение от $0,25\times10^7$ PBMC/см^2 до в среднем 1,9 плюс/минус $0,2\times10^7$ клеток/см^2 (медиана: $2,05\times10^7$, интервал: $0,6\text{-}2,82\times10^7$ клеток/см^2 n равно 12), которые практически исключительно состояли из Т-клеток CD3+ (96,2 плюс/минус 0,6%; среднее плюс/минус SEM (стандартная ошибка среднего) со смесью цитотоксических (CD8+;

18,1 плюс/минус 1,3%) и хэлперных (CD4+; 74,4 плюс/минус 1,7%) Т-клеток [**ФИГ. 20В**], без доказательства разрастания регуляторных Т-клеток при оценке посредством окрашивания на CD4+/CD25/FoxP3+ (**ФИГ. 21**).

Кроме того, размноженные клетки демонстрировали фенотип, согласующийся с эффекторной функцией и долговременной памятью, что доказывается повышающей регуляцией маркеров активации CD25 (50,2 плюс/минус 3,8%), CD69 (52,8 плюс/минус 6,3%), CD28 (85,8 плюс/минус 2%), а также экспрессией маркеров центральной (CD45RO+/CD62L+: 61,4 плюс/минус 3%) и эффекторной памяти (CD45RO+/CD62L-: 20,3 плюс/минус 2,3%), с минимальной поверхностной экспрессией PD1 (6,9 плюс/минус 1,4%) или Tim3 (13,5 плюс/минус 2,3%) **(ФИГ. 20В-Г].**

Противовирусная специфичность мульти-R-VST

Для того чтобы далее определить, были ли размноженные популяции антигенспецифическими, авторы настоящего изобретения осуществляли анализ ELIspot на IFNγ с использованием каждого из индивидуальных стимулирующих антигенов в качестве иммуногена. Все 12 полученных линий оказались реактивными против всех вирусов-мишеней **[Таблица 1, ФИГ. 23]**. На **ФИГ. 22А** обобщена величина активности против каждого из стимулирующих антигенов, тогда как на **ФИГ. 24** показан ответ размноженных авторами настоящего изобретения VST на титрованные концентрации вирусного антигена. Примечательно, что на протяжении 10-13 суток в культуре авторы настоящего изобретения достигали обогащения вирусоспецифических Т-клеток в 14,6 плюс/минус 4,3 (PIV-HN) – 50,4 плюс/минус 9,9 (RSV-N) раза **[ФИГ. 22Б**; частоты предшественников CARV-реактивных Т-клеток в пределах PBMC доноров обобщены на **ФИГ. 26** и **27**]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что Т-клетки, специфические в отношении респираторного вируса, находятся в пуле клеток памяти и могут легко амплифицироваться *ex vivo* с использованием методологий изготовления, согласующихся с GMP.

Для последующей оценки того, содержалась ли специфичность к вирусам в поднаборах Т-клеток CD4+ или CD8+, или и тех, и других, авторы настоящего изобретения осуществляли ICS (внутриклеточное окрашивание клеток) с гейтированием CD4+ и CD8+ IFNγ-продуцирующих клеток. На **ФИГ. 22В** показаны репрезентативные результаты от 1 донора с активностью против всех 4 вирусов, выявленные в обоих компартментах Т-клеток [(CD4+: вирус гриппа – 5,28%; RSV -

11%; hMPV – 6,57%; PIV – 3,37%), (CD8+: вирус гриппа – 2,26%; RSV – 4,36%; hMPV – 2,69%; PIV – 2,16%)], тогда как на **ФИГ. 22Г** показаны обобщающие результаты для 9 доноров, подвергавшихся скринингу, подтверждающие, что мульти-R-VST авторов настоящего изобретения являются поликлональными и полиспецифическими.

Функциональная характеристика мульти-R-VST

Было показано, что продукция многочисленных провоспалительных цитокинов и экспрессия эффекторных молекул коррелирует с усиленной цитолитической функцией и улучшенной активностью Т-клеток *in vivo*. Следовательно, авторы настоящего изобретения далее проанализировали цитокиновый профиль мульти-R-VST авторов настоящего изобретения после воздействия антигенов. Как показано на **ФИГ. 27А-27Г**, большинство IFNγ-продуцирующих клеток также продуцировали TNFα [**ФИГ. 27А** – подробные результаты ICS от одного донора; обобщающие результаты для 9 доноров; **ФИГ. 27Б**], помимо GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), при измерении посредством чипа Luminex [**ФИГ. 27В** – левая панель], с базовыми уровнями прототипических Th2/подавляющих цитокинов [**ФИГ. 27В** – правая панель]. Кроме того, при антигенной стимуляции клетки авторов настоящего изобретения продуцировали эффекторную молекулу гранзим В, свидетельствуя о цитолитическом потенциале данных размноженных клеток [**ФИГ. 27Г**, n равно 9]. В совокупности эти данные демонстрируют Th1-поляризованные и полифункциональные характеристики мульти-R-VST авторов настоящего изобретения.

Мульти-R-VST являются цитолитическими и уничтожают загруженные вирусом мишени

Для исследования цитолитического потенциала этих размноженных клеток *in vitro* авторы настоящего изобретения совместно культивировали мульти-R-VST с аутологическими меченными Cr51 PHA бластными клетками, которые загружали смесями вирусных пептидов, с незагруженными PHA бластными клетками, служащими в качестве контроля. Как показано на **ФИГ. 28А** и **ФИГ. 29**, загруженные вирусным антигеном мишени специфически распознавались и лизировались размноженными мульти-R-VST авторов настоящего изобретения (40:1 E:T – вирус гриппа: 13 плюс/минус 5%, RSV: 36 плюс/минус 8%, hMPV: 26 плюс/минус 7%, PIV: 22 плюс/минус 5%, n равно 8). Наконец, несмотря на то, что эти VST получали только

одну стимуляцию, не было доказательства ни активности против неинфицированных аутологических мишеней, ни аллореактивности (потенциала трансплантата против хозяина) с использованием не соответствующих по HLA PHA бластных клеток в качестве мишеней (**ФИГ. 28Б**), что является важным фактором, если эти клетки подлежат введению реципиентам аллогенных HSCT.

Выявление CARV-специфических Т-клеток у реципиентов HSCT

Наконец, для оценки потенциальной клинической релевантности мульти-R-VST авторы настоящего изобретения исследовали, демонстрировали ли реципиенты аллогенных HSCT с активными/недавними инфекциями CARV повышенные уровни реактивных Т-клеток во время/после активной вспышки вирусного заболевания. На **ФИГ. 30А** показаны результаты пациента №1 – 64-летнего мужчины с острым миелоидным лейкозом (AML), который получил трансплантат от родственного донора с соответствием (MRD) с пониженной интенсивностью кондиционирования. У указанного пациента развилась тяжелая URTI (инфекция верхних дыхательных путей) через 9 месяцев после HSCT, которая посредством PCR-анализа (полимеразная цепная реакция) была подтверждена как связанная с RSV. Он не находился на каком-либо иммуносупрессивном лечении во время инфекции, но был переведен на преднизон в сутки постановки диагноза инфекции для контроля воспаления легких.

В пределах 4 недель его симптомы разрешались без специфического противовирусного лечения. Для оценки того, способствовал ли Т-клеточный иммунитет клиренсу вируса, авторы настоящего изобретения анализировали частоту в кровотоке RSV-специфических Т-клеток по ходу его инфекции. Непосредственно до инфекции указанный пациент демонстрировал очень слабый ответ на антигены N и F RSV (6,5 SFC/5×10^5 PBMC). Однако в пределах месяца воздействия вируса RSV-специфические Т-клетки размножались *in vivo* (527 SFC/5×10^5 PBMC), представляя 81-кратное увеличение реактивных клеток, как видно на **ФИГ. 30А**, число которых затем снижалось, совпадая с клиренсом вируса. Примечательно то, что наблюдаемые RSV-специфические ответы не следовали общему увеличению числа лимфоцитов/CD4+, таким образом, указывая на то, что размножение Т-клеток управлялось вирусом и не было обусловлено общим восстановлением иммунной системы. Аналогичным образом, пациент №2 – 23-летний мужчина с острым лимфобластным лейкозом (ALL) - получал трансплантат неродственного донора с соответствием (MUD) с миелоаблативным

кондиционированием, и у него развивалась тяжелая связанная с RSV URTI через 5 месяцев после HSCT при нахождении на сокращающихся дозах такролимуса. Его инфекция симптоматически разрешалась в пределах 1 недели, совпадая с введением рибавирина. Для исследования того, играл ли также эндогенный иммунитет роль в клиренсе вируса, авторы настоящего изобретения отслеживали число реактивных Т-клеток с течением времени.

Как видно на **ФИГ. 30Б**, клиренс вируса сопровождался увеличением частоты RSV-специфических Т-клеток (пик 93 SFC/5×10^5 PBMC) в системе кровообращения с последующим возвращением к исходным уровням. Того же самого пациента госпитализировали через 7 месяцев после трансплантации из-за последующей пневмококковой пневмонии с сопутствующим выявлением (посредством PCR) hMPV в мокроте. Его пневмонию лечили антибиотиками с последующим разрешением заболевания и клиренсом вируса, совпадающим с заметным размножением hMPV-специфических Т-клеток (реактивных против F, N, M2-1 и M), число которых увеличивалось от 4 SFC до пика в 70 SFC, и с последующим снижением до исходных уровней (**ФИГ. 30В**). Снова, наблюдаемые RSV- и hMPV-специфические ответы были независимыми от общего увеличения числа лимфоцитов/CD4+.

На **ФИГ. 31** показаны результаты 3 дополнительных реципиентов HSCT, у которых развивались инфекции CARV. Пациент №3 – 15-летняя девушка с AML – получала гаплоидентичный трансплантат с пониженной интенсивностью кондиционирования, и у нее развивались RSV-индуцированные URTI и LRTI (инфекция нижних дыхательных путей) при нахождении на такролимусе через 5 недель после трансплантации. Указанному пациенту вводили рибавирин, и инфекция разрешалась в пределах 4 недель. Авторы настоящего изобретения отслеживали RSV-реактивные Т-клетки с течением времени, и, как можно видеть на **ФИГ. 31А**, клиренс вируса совпадал с потрясающим увеличением частоты RSV-специфических Т-клеток (от 0 до 506 SFC/5×10^5 PBMC). Аналогичным образом, пациент №4 – 10-летний пациент мужского пола с ALL – получал трансплантат MUD с миелоаблативным кондиционированием, и у него развивались связанные с PIV URTI и LRTI через 1 месяц после HSCT при нахождении на такролимусе. Его инфекция симптоматически разрешалась в пределах 5 недель, совпадая с введением рибавирина.

Для исследования того, играл ли также эндогенный иммунитет роль в клиренсе

вируса, авторы настоящего изобретения отслеживали число PIV-реактивных Т-клеток с течением времени. Как видно на **ФИГ. 31Б**, клиренс вируса сопровождался увеличением частоты в системе кровообращения Т-клеток, специфических в отношении антигенов M, HN, N и F PIV (пик 38 SFC/5×10^5 PBMC) с последующим снижением. Наконец, авторы настоящего изобретения демонстрируют то, что пациент №5 – 3-летний мальчик с хроническим гранулематозом – получал трансплантат MRD с миелоаблативным кондиционированием, и у него развивалась тяжелая, связанная с PIV URTI через 4 месяца после HSCT при нахождении на циклоспорине. Указанный пациент получал рибавирин, но (в последний оцениваемый момент времени) продолжал демонстрировать симптомы заболевания и не смог продемонстрировать PIV-специфические Т-клетки (**ФИГ. 31В**). В совокупности эти данные свидетельствуют о релевантности *in vivo* CARV-специфических Т-клеток при контроле вирусных инфекций у пациентов с ослабленным иммунитетом.

Авторы настоящего изобретения исследовали возможность нацеливания на многие клинически сложные респираторные вирусы с использованием Т-клеток, размноженных *ex vivo*. Авторы настоящего изобретения показали, что они могут быстро получать поликлональные CD4+ и CD8+ Т-клетки со специфичностями, направленными всего на 12 антигенов, имеющих происхождение от 4 сезонных CARV [вирус гриппа, RSV, hMPV и PIV], которые отвечали за инфекции верхних и нижних дыхательных путей у хозяина с ослабленным иммунитетом. Эти VST широкого спектра, генерированные с использованием методологий, согласующихся с GMP, были Th1-поляризованными, продуцировали многочисленные эффекторные цитокины при стимуляции и умерщвляли инфицированные вирусом мишени без аутореактивности или аллореактивности. Наконец, выявление популяций реактивных Т-клеток в периферической крови аллогенных реципиентов HSCT, у которых успешно подвергались клиренсу активные CARV инфекции, свидетельствует о потенциале для клинической пользы после адоптивного переноса таких мульти-R-VST.

Ассоциированные с CARV инфекции верхних и нижних дыхательных путей являются важной проблемой общественного здравоохранения, причем маленькие дети, пожилые и люди с подавленной или ослабленной иммунной системой являются самыми уязвимыми. Данные инфекции ассоциированы с симптомами, включающими кашель, одышку и свистящее дыхание, и двойные/многочисленные сосуществующие

инфекции являются обычными с частотами, которые могут превышать 40% среди детей младше 5 лет, и ассоциированы с повышенным риском заболеваемости и госпитализации. Среди реципиентов аллогенных HSCT с ослабленным иммунитетом вплоть до 40% подвергаются инфекциям CARV, которые могут варьировать от легких (ассоциированные симптомы, включающие ринорею, кашель и лихорадку) до тяжелых (бронхиолит и пневмония) с ассоциированными коэффициентами смертности вплоть до 50% у людей с LRTI. Терапевтические возможности являются ограниченными. Против hMPV и PIV в настоящее время нет ни одобренных профилактических вакцин, ни терапевтических противовирусных лекарственных среств, тогда как применение «вне инструкции» нуклеозидного аналога RBV и исследование применения DAS-181 (слитый рекомбинантный белок сиалидазы) имели ограниченное клиническое влияние. Профилактическая ежегодная вакцина против гриппа не рекомендована для реципиентов аллогенных HSCT до по меньшей мере 6 месяцев после трансплантации (и исключается у реципиентов интенсивной химиотерапии или антител против B-клеток), тогда как ингибиторы нейраминидазы не всегда являются эффективными для лечения активных инфекций.

Относительно RSV RBV в форме аэрозоля одобрен FDA для лечения тяжелого бронхиолита у младенцев и детей и также используется «вне инструкции» для предупреждения инфекций верхних и нижних дыхательных путей и для лечения вызванной RSV пневмонии у реципиентов HSCT. Однако его широкое применение ограничивается громоздким устройством для распыления и системой вентиляции, требующейся для доставки лекарственного средства, а также значительными ассоциированными затратами. Например, в 2015 г. затраты на RBV в форме аэрозоля составляли 29953 долларов США в сутки, причем 5 суток представляли типичный курс лечения. Таким образом, отсутствие одобренных способов лечения совместно с высокими затратами на антивирусные агенты привело авторов настоящего изобретения к исследованию потенциала применения адоптивно перенесенных T-клеток для предупреждения и/или лечения инфекций CARV в этой популяции пациентов.

Решающая роль функционального T-клеточного иммунитета в опосредовании вирусного контроля CARV лишь недавно привлекла внимание. Например, в ретроспективном исследовании 181 пациента с HSCT с URTI, вызванными RSV, доложили о лимфопении (определенной как ALC (абсолютное содержание лимфоцитов) 100 или менее чем 100/мм^3) в качестве ключевой детерминанты в

идентификации пациентов, инфекции которых прогрессировали бы до LRTI, тогда как уровни нейтрализующих антител против RSV не были значимо ассоциированными с прогрессированием заболевания. Кроме того, в недавнем ретроспективном анализе 154 взрослых пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями с HSCT или без них, которых лечили против LRTI, вызванных RSV, лимфопения была значимо ассоциированной с более высокими коэффициентами смертности. Оба из этих исследований свидетельствуют о важности клеточного иммунитета в опосредовании защитного иммунитета *in vivo*.

Группа авторов настоящего изобретения ранее продемонстрировала возможность и клиническую пользу размноженных *ex vivo* VST для лечения от целого ряда клинически проблемных вирусов, включающих латентные вирусы CMV, EBV, BKV, HHV-6 и AdV. В исходных исследованиях авторов настоящего изобретения (и исследованиях других) изучали безопасность и активность линий Т-клеток, имеющих происхождение от доноров, но совсем недавно авторы настоящего изобретения разработали готовую к применению универсальную Т-клеточную платформу, посредством которой перспективно получали и вносили в банк VST, специфические в отношении всех 5 вирусов (CMV, EBV, BKV, HHV-6, AdV), таким образом, обеспечивая их немедленную доступнось для введения пациентам с ослабленным иммунитетом с неконтролируемыми инфекциями.

В самом деле, в недавнем клиническом испытании фазы II авторов настоящего изобретения авторы настоящего изобретения вводили эти частично соответствующие по HLA VST 38 пациентам всего с 45 инфекциями, которые оказались трудно поддающимися лечению традиционными антивирусными агентами и достигали общего показателя ответа 92% при отсутствии значимой токсичности. Этот прецедент клинического успеха с использованием адоптивно перенесенных Т-клеток, а также отсутствие эффективных терапий против ряда CARV побудили авторов настоящего изобретения исследовать потенциал для расширения терапевтического охвата терапии VST на инфекции вирусом гриппа, RSV, hMPV и PIV после HSCT. В данном контексте могла бы рассматриваться возможность профилактического сезонного введения VST пациентам высокого риска [например, юным (меньше 5 лет) и пожилым взрослым, пациентам с ослабленными иммунными системами].

В качестве альтернативы, эти клетки могли бы использоваться терапевтически у пациентов с URTI, у которых не имели успеха традиционные противовирусные

лекарственные средства, для того, чтобы предупреждать прогрессирование LRT. Таким образом, с использованием установленной авторами настоящего изобретения, совместимой с GMP методологией изготовления VST авторы настоящего изобретения продемонстрировали возможность получения реактивных VST против ряда антигенов, имеющих происхождение от CARV, выбранных на основе и их иммуногенности для Т-клеток, и консервативности их последовательности [вирус гриппа – NP1 и MP1; RSV – N и F; hMPV – F, N, M2-1 и M; PIV – M, HN, N и F от 12 доноров с разнообразными гаплотипами. Размноженные клетки были поликлональными (CD4+ и CD8+), Th1-поляризованными и полифункциональными, и могли лизировать мишени, экспрессирующие вирусный антиген, при одновременном сбережении неинфицированных аутологических или аллогенных мишеней, демонстрируя как их вирусоспецифичность, так и их безопасность для клинического применения.

Наконец, для оценки клинической значимости этих данных авторы настоящего изобретения исследовали периферическую кровь 5 реципиентов аллогенных HSCT с активными инфекциями RSV, hMPV и PIV. Четверо из указанных пациентов успешно контролировали вирусы в пределах 1-5 недель, что совпадало с амплификацией эндогенных реактивных Т-клеток и последующим возвращением к исходным уровням при вирусном клиренсе, тогда как у одного пациента не мог устанавливаться иммунный ответ против инфицирующего вируса, и, равным образом, до настоящего времени не мог осуществляться клиренс инфекции. Эти данные свидетельствуют о том, что адоптивный перенос размноженных *ex vivo* клеток должен быть клинически полезным у пациентов, у которых отсутствует собственный клеточный иммунитет.

В заключение, авторы настоящего изобретения показали, что возможно быстрое получение одного препарата поликлональных мультиреспираторных (мульти-R)-VST со специфичностями, направленными на вирус гриппа, RSV, hMPV и PIV, в клинически релевантных количествах с использованием согласующихся с GMP методологий изготовления. Согласно этим данным предложено обоснование для будущего клинического испытания адоптивно перенесенных мульти-R-VST для предупреждения или лечения инфекций CARV у пациентов с ослабленным иммунитетом.

Пример 3. Получение донорских минибанков Т-лимфоцитов, специфических ко многим вирусам, для предупреждения и лечения инфекций после allo-HSCT

У здоровых индивидов Т-клеточный иммунитет защищает против BKV и других вирусов. У реципиентов allo-HSCT применение мощных иммуносупрессивных схем (и последующее ассоциированное ослабление иммунитета) оставляет пациентов чувствительными к тяжелым вирусным инфекциям. Следовательно, подходом авторов настоящего изобретения является восстановление Т-клеточного иммунитета посредством введения размноженных *ex vivo*, не модифицированных генетически вирусоспецифических Т-клеток (VST) для контроля вирусных инфекций и устранения симптомов в течение периода, пока не восстановится собственная иммунная система пациента с трансплантатом. Для достижения этого авторы настоящего изобретения перспективно изготовили VST из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC), полученных от здоровых, подвергнутых предварительному скринингу (на инфекционные агенты и факторы риска заболевания, как предписано подразделом C раздела 1271 21 CFR (Свод федеральных правил США), серопозитивных доноров, которые доступны в виде частично соответствующего по HLA готового продукта.

Один из продуктов VST (Viralym-M) авторов настоящего изобретения является специфическим в отношении пяти вирусов [EBV, CMV, AdV, BKV и вирус герпеса человека 6 (HHV6)]. Авторы настоящего изобретения сначала намеревались сконструировать донорские минибанки, как описано в Примере 1, для получения линий клеток Viralym-M. Задачей авторов настоящего изобретения была генерация минибанков с достаточным разнообразием для охвата большинства реципиентов аллогенных HSCT, направленных для лечения. Таким образом, как и в приведенных выше Примерах, авторы настоящего изобретения сначала проверили расовое и этническое разнообразие популяции для трансплантации США, которое авторы настоящего изобретения сравнивали с пациентами, которые получали трансплантат аллогенных стволовых клеток в Baylor CCGT (Таблица 4 и Таблица 5). Это продемонстрировало, что разнообразие в пределах популяции пациентов в Baylor CCGT является аналогичным, если не слегка большим, чем у населения США.

Таблица 5. Этническая принадлежность реципиентов аллогенных HSCT

Этническая принадлежность пациента	**Общее число в США (2013-2015) (%)**	**Число в Baylor CCGT (2014-2018) (%)**
Испаноязычные или латино	2910 (12%)	225 (27,7%)
Не испаноязычные или	20415 (86%)	585 (72,3%)

латино		
Неизвестная	521 (2%)	н/д (не доступно)
Всего	23846 (100%)	810 (100%)

Для анализа модели отбора доноров авторов настоящего изобретения, описанной в Примере 1, авторы настоящего изобретения провели симуляцию, посредством которой авторы настоящего изобретения сравнили типы HLA перспективных доноров с реципиентами аллогенных HSCT согласно способу в Примере 1, и из этого идентифицировали 25 индивидов для включения в 5 неизбыточных донорских минибанков (5 доноров на минибанк), которые охватывали бы более 95% целевых пациентов авторов настоящего изобретения. Посредством конструирования этих 5 минибанков авторы настоящего изобретения обеспечили избыточность для каждого пациента (т.е. каждый пациент вероятно имел подходящее соответствие в каждом из 5 минибанков).

В **Таблице 6** показаны типы HLA доноров Viralym-M, идентифицированных для включения в донорские минибанки на основе данного способа.

ID № донора	**HLA-A**	**HLA-B**	**HLA-DR**	**HLA-DQ**
1	2,24	7,35	4,7	2,3
2	11,24	7,27	1,15	5,6
3	3,68	15,15	3,4	2,3
4	2,24	7,44	4,15	3,6
5	1,2	8,15	1,3	2,5
6	3,24	35,38	1,11	3,5
7	2,24	57,7	7,15	3,6
8	11,3	18,51	3,1	2,5
9	26,68	27,44	8,11	4,3
10	1,2	7,15	1,4	3,5
11	1,2	13,52	7,15	2,6
12	2,24	7,40	11,15	3,6
13	2,3	7,44	11,13	3,6
14	2,24	8,14	1,3	2,5
15	1,2	39,44	4,8	3,4

16	3,2	7,57	15,7	6,3
17	24,68	15,27	3,4	2,3
18	2,11	40,50	1,8	4,5
19	2, 24	13, 40	4, 7	2,3
20	2, 11	7, 35	1, 15	5,6
21	26, 30	8, 53	3, 13	2,6
22	2, 2	8, 35	3, 7	2,3
23	3, 24	7, 35	14, 15	3,6
24	2, 24	15, 39	1, 4	3,5
25	68, 2	7, 57	15, 7	6,3

Для формальной оценки того, в самом ли деле симулированный донорский банк Viralym-M (Таблица 6) авторов настоящего изобретения обеспечивает заявленный охват, авторы настоящего изобретения сперва оценили потенциал указанного банка для того, чтобы быть приспособленным к пациентам, зарегистрированным в исследовании POC фазы II авторов настоящего изобретения с мощным Т-клеточным продуктом, соответствующим по меньшей мере по 2 аллелям HLA. Как показано на ФИГ. 32, авторы настоящего изобретения, в самом деле, смогли приспособить продукт, соотвествующий по меньшей мере по 2 аллелям HLA для всех 54 пациентов (100%), и достигнуть в среднем 5 плюс/минус 1 общего аллеля (интервал 2 – 7/8 соотвествующих аллелей). Кроме того, когда авторы настоящего изобретения расширили указанный анализ на всю популяцию из более чем 650 пациентов с аллогенными HSCT авторов настоящего изобретения в Baylor CCGT, авторы настоящего изобретения вновь смогли приспособить продукт, соотвествующий по меньшей мере по 2 аллелям HLA, для 100% всех перспективных пациентов и вновь достигли в среднем 5 плюс/минус 1 общих аллелей (интервал 2 – 8/8 соотвествующих аллелей) (ФИГ. 33).

В совокупности эти данные поддерживают то, что донорские минибанки авторов настоящего изобретения (содержащие линии вирусоспецифических Т-клеток, полученные от тщательно отобранных доноров) могут обеспечивать охват по меньшей мере 95% популяции пациентов с аллогенными HSCT США продуктом, соответствующим минимум по 2 аллелям HLA.

Способ изготовления Viralym-M был таким, как описано ранее авторами настоящего изобретения в WO2013/119947 и Tzannou et al., J Clin Oncol. 2017 Nov 1;

35(31: 3547-3557, каждая из которых включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте и описана на Фиг. 12. Вкратце, PBMC выделяли от здоровых серопозитивных доноров, и 250×10^6 PBMC культивировали в культуральной системе G-Rex 100M (Wilson Wolf, Saint Paul, MN) в присутствии полной среды, смесей пептидов, охватывающих антигены Viralym M (аденовирус, CMV, EBV, BKV и HHV6), IL-4 и IL-7 в течение приблизительно 7-14 суток при 37 градусах C при 5% CO_2 (хотя время культивирования и можно увеличивать в некоторых случаях до приблизительно 18 суток). После культивирования линии клеток Viralym M отбирали, промывали и аликвотировали для криоконсервирования в жидком азоте до применения при анализе контроля качества или в качестве терапевтического средства.

На **ФИГ. 13** показана соответствующая эффективность линий антигенспецифических Т-клеток против аденовируса, CMV, EBV, BKV и HHV6 по сравнению с негативным контролем, который ниже порога эффективности. Указанные Т-клетки являются специфическими в отношении всех пяти вирусов, на что указывает более 30 SFC/2×10^5 VST на входе, что является порогом для различения между принятием и отверганием специфической линии Т-клеток. Порог эффективности более 30 SFC/2×10^5 VST на входе был установлен на основе экспериментальных данных с использованием линий Т-клеток, генерированных от доноров, которые были серонегативными (на основе серологического скрининга) в отношении одного или более чем одного вируса-мишени, который служил в качестве внутреннего негативного контроля (**ФИГ. 14**).

Авторы настоящего изобретения оценивали Viralym-M в испытании для подтверждения концепции с открытой маркировкой фазы 2, где VST вводили 58 пациентам с аллогенными HSCT с трудно поддающимися лечению инфекциями. Авторы настоящего изобретения называют это испытание CHARMS. Данные из этого исследования приведены в (Tzannou et al, JCO, 2017).

Первичной задачей CHARMS, которое не сопровождалось статистикой в отношении превосходства или значимости, было определение возможности и безопасности введения частично соответствующих по HLA мульти-VST терапий, специфических в отношении пяти вирусов у пациентов с HSCT со стойкими вирусными реактивациями или инфекциями. Пациенты удовлетворяли критериям после любого типа аллогенной трансплантации, если они имели инфекции BKV, CMV,

AdV, EBV, HHV-6 и/или JCV, которые давали рецидив, реактивировались или сохранялись, несмотря на стандартную противовирусную терапию.

Для оценки аллореактивного потенциала специфических в отношении многих вирусов Т-клеток (клетки Viralym-M) авторы настоящего изобретения сначала прямо активировали PBMC смесями пептидов, охватывающими иммуногенные антигены, имеющие происхождение от каждого вируса: Adv (Hexon и Penton), CMV (IE1 и pp65), EBV (LMP2, EBNA1, BZLF1), вирус BK (VP1 и большой T) и HHV6 (U90, U11 и U14). Авторы настоящего изобретения затем переносили клетки в устройство G-Rex в среду для Т-клеток, дополненную IL4 плюс IL7 (как описано на **ФИГ. 12**) и оценивали их цитотоксическую активность против мишеней, не соответствующих по HLA. Как показано на **ФИГ. 34**, эти клетки демонстрировали минимальную/отсутствие выявляемой аллореактивности, поддерживая потенциальную безопасность этих клеток при введении в виде готового продукта с частичным соответствием HLA.

Авторы настоящего изобретения затем исследовали безопасность и клинические эффекты частично соответствующих по HLA клеток Viralym-M в отношении лечения трудно поддающихся лечению вирусных инфекций у детей и взрослых после аллогенной HSCT (Tzannou et al, JCO, 2017).

Все инфузии хорошо переносились. За исключением 3 пациентов, у которых развивалась кратковременная лихорадка, и одного, у которого развивалась боль в лимфатическом узле в пределах 24 часов после инфузии, не наблюдали острых токсичностей. Ни у одного из пациентов не развивался синдром высвобождения цитокинов (CRS). В следующие недели после инфузии у одного пациента развивалась рецидивная желудочно-кишечная (GI) GVHD степени III после быстрого снижения дозы стероидов, и у восьми пациентов развивалась рецидивная (n равно 4) или *de novo* (n равно 4) GVHD кожи степени I-II, которая разрешалась с введением местных лечений (n равно 7) и повторного начала введения кортикостероидов после уменьшения дозы (n равно 1).

<u>Клинические эффекты:</u>

Для шестидесяти инфекций у 52 подвергавшихся лечению пациентов, которые предоставили оцениваемые данные, совокупный показатель клиничнского ответа составлял 93% к неделе 6 после инфузии Viralym-M, как обобщено ниже:

- BKV: двадцать два пациента получали Viralym-M для лечения стойкой

вирусной инфекции BKV и заболевания ткани (20 с обусловленным BK геморрагическим циститом и 2 с ассоциированным с BKV нефритом). Все 20 пациентов с BK-HC (обусловленный BK геморрагический цистит) имели разрешение клинических симптомов после получения Viralym-M с 9 полными ответами (CR) и 11 частичными ответами (PR) для 6-недельного совокупного ответа 100%.

• CMV: двадцать пациентов получали Viralym-M из-за стойкой инфекции CMV. 19 пациентов отвечали на Viralym-M с 7 CR и 12 PR с 1 нереспондером (NR) с показателем 6-недельного совокупного ответа 95%. Респондеры включали 2 из 3 пациентов с колитом и 1 пациента с энцефалитом.

• AdV: одиннадцать пациентов получали Viralym-M из-за стойкой инфекции AdV, и инфузии давали 7 CR, 2 PR и 2 NR, с показателем 6-недельного совокупного ответа 81,8%.

• EBV: три пациента получали Viralym-M для лечения стойкой инфекции EBV. У двух пациентов достигался вирологический CR, а у одного пациента – PR.

• HHV6: четыре пациента получали Viralym-M для лечения реактиваций HHV6, включая одного пациента с трудно поддающимся лечению энцефалитом, и три пациента имели PR в пределах 6 недель после инфузии (включая пациента с энцефалитом), тогда как один не отвечал на лечение.

• Двойные инфекции: восемь пациентов получали Viralym-M из-за двух вирусных инфекций с общим опытом, составляющим 12 CR и 4 PR после одной инфузии. CMV, AdV и EBV во всех случаях подвергались клиренсу, все пациенты с BKV HC имели клиническое улучшение (n равно 3) или разрешение заболевания (n равно 2), а пациент с обусловленным HHV6 энцефалитом также имел клиническое улучшение.

Авторы настоящего изобретения проверяли данные, доступные из исследования Viralym-M фазы I/II авторов настоящего изобретения для определения того, имелся ли порог соответствия HLA, ассоциированный с клинической эффективостью. В клиническом испытании авторов настоящего изобретения продукты, которые использовали клинически, соответствовали по 1/8 (n равно 2), 2/8 (n равно 10), 3/8 (n равно 11), 4/8 (n равно 14), 5/8 (n равно 14), 6/8 (n равно 4) или 7/8 (n равно 5) аллелям HLA. Для определения того, имелась ли корреляция с клиническим результатом и степенью соответствия HLA, авторы настоящего изобретения разделяли пациентов на

группы полного ответа (CR), частичного ответа (PR) и нереспондеров (NR), но, как обобщено на ФИГ. 35, эти результаты свидетельствуют о том, что не было различия в результате на основе числа соответствующих аллелей HLA.

Далее авторы настоящего изобретения проверили, есть ли различие в результате на основе введения линий, соответствущих только по HLA класса I, HLA класса II или комбинации обоих. Примечательно то, что большинство пациентов получало линии, которые соответствовали по аллелям как класса I, так и класса II (**ФИГ. 36**), и снова результаты свидетельствуют о том, что на итоговый результат не влияла степень соответствия аллелей (**ФИГ. 37**).

Как отмечено выше, первичным клиническим проявлением инфекции BKV после аллогенной HSCT является геморрагический цистит (BK-HC). В исследовании CHARMS 26 пациентов с индуцированным вирусом геморрагическим циститом лечили VST, как приведено выше, и пациентов подвергали оценке степени геморрагического цистита с течением времени в недели 0, 2, 4 и 6 после инфузии. Средняя степень цистита перед инфузией составляла 2,81 плюс/минус 0,08. Среди всех 24 пациентов в указанном исследовании, которые удовлетворяли критериям оценки степени цистита, BK-HC быстро разрешался. Разрешение определяли как степень 1 или менее чем 1. Как показано на **ФИГ. 37**, разрешение достигалось у 50% пациентов-реципиентов VST к 2 неделям после инфузии и у 75% пациентов к 6 неделям после инфузии. На **ФИГ. 38** показано быстрое разрешение цистита у 20 пациентов с течением времени по сравнению с историческими данными от 33 пациентов с HSCT со средней степенью BK-HC 3, которые получали стандартное лечение (без VST). Примечательно то, что когда реципиентов VST делили на группы низкого уровня соответствия HLA (1-2 из 6 соответствий) и более высокого уровня соответствия HLA (3-4 из 6 соответствий), снижение средней степени цистита было аналогичым в обеих группах (**ФИГ. 39**). Таким образом, VST являются эффективными даже в ситуациях с низким уровнем соответствия HLA.

Кроме того, важно, что исследование CHARMS продемонстрировало, что введение более чем одного другого продукта VST (Viralym M) является безопасным и эффективным, даже если у второй линии имеется сильное несоответствие. Например, как сообщается в Таблице 2 Tzannou (2017), несколько пациентов получали введение двух отдельных линий клеток с полезными ответами:

Таблица 7: ответы отобранных пациентов (модифицировано из Таблицы 2 в

Tzannou (2017)

№ пациента	Инфекция	Инфун-дирован-ные линии	Соответствие HLA (из восьми линий)	Наилучший ответ к 6 неделям	Результат
3848	резистент-ный штамм CMV	C5404; C5678	3 аллеля; 4 аллеля	PR; нет	PR с рецидивом в 4 недели
3357	CMV	C5678; C6323	4 аллеля; 5 аллелей	PR	Стойкий CR
4076	CMV, AdV	C6209; C6611	6 аллелей; 3 аллеля	CMV CR; AdV CR	Стойкий CR для CMV; рецидив AdV со стойким CR после второй инфузии
3755	EBV, BKV	C5602, C5624	5 аллелей; 2 аллеля	EBV CR; BKV PR	Стойкий CR для EBV; PR для BKV со стабильной почечной функцией
3877	BKV	C6322, C5602	3/6 аллелей; 4 аллеля	Вирологичес-кий PR; Клинический PR	Разрешение HC после третьей инфузии
3899	BKV	C6726, C5497	4 аллеля; 3 аллеля	Вирологичес-кий PR; Клинический PR	Разрешение HC после второй инфузии

Кроме того, как показано в Таблице A7 Tzannou (2017), модифицированной ниже в Таблице 8, те пациенты, которые получали введение по меньшей мере двух линий клеток, демонстрировали отсутствие или слабую aGVHD к неделе 6 или cGVHD

в пределах 1 года лечения.

Таблица 8: ответы отобранных пациентов (модифицированные из Таблицы 2 в Tzannou (2017)

№ пациента	Инфекция	aGVHD к неделе 6 (лечение; результат)	cGVHD в пределах 1 года (лечение; результат)
3848	резистентный штамм CMV	НЕТ	Н/П НЕТ
3357	CMV	Кожная степени 1 (местные кортикостероиды; разрешение)	НЕТ
4076	CMV, AdV	НЕТ	НЕТ
3755	EBV, BKV	НЕТ	бессимптомная хроническая GVHD
3877	BKV	Кожная степени 1 (местные кортикостероиды; разрешение)	НЕТ
3899	BKV	НЕТ	Н/П

Сокращения: GVHD: болезнь «трансплантат против хозяина»; aGVHD: острая GVHD; cGVHD: хроническая GVHD; Н/П: не применимо.

Таким образом, эти результаты из этих данных фазы I/II демонстрирут, что более 95% пациентов получали продукт, соответствующий по 2 или более чем 2 аллелям HLA, что было ассоциировано с клинической пользой. Соответствие по HLA класса I или класса II, по-видимому, не влияло на результат и не влияло на профиль безопасности данных клеток, как не влияло и введение более чем одной линии клеток указанному пациенту, даже когда вторая линия сильно не соответствовала.

Пример 4. Универсальные продукты клеточной терапии

Как обсуждено выше, при введении реципиентам аллогенных HSCT с использованием соответствия HLA (порог 2 или более чем 2 аллеля) в качестве критерия для отбора линии, эти клетки оказались безопасными и обеспечивали противовирусную активность против всех 5 вирусов-мишеней в клиническом

испытании POC авторов настоящего изобретения (Пример 3 и идентификатор клинического испытания NCT02108522). Кроме того, инфузия продуктов многих разных линий клеток хорошо переносилась, даже когда линия клеток имела высокую степень несоответствия (см., например, пациента номер 3755, которому инфундировали вторую линию клеток, которая соответствовала только по 2 аллелям (относительно первой линии, которая соответствовала по 5 аллелям).

Эти результаты свидетельствуют о том, что существует малый риск или нет риска введения одному пациенту многих линий клеток с варьирующим уровнем аллельного соответствия. На основе этих результатов универсальный продукт клеточной терапии получают посредством объединения в пул всех линий клеток в данном донорском минибанке. Поскольку каждый минибанк охватывает более 95% целевой популяции пациентов, такой универсальный продукт клеточной терапии содержит соответствующий продукт клеточной терапии для более чем 95% перспективных пациентов. Таким образом, в некоторых случаях универсальный продукт клеточной терапии вводят субъекту, нуждающемуся в нем, независимо от типа HLA субъекта. В некоторых случаях универсальный продукт клеточной терапии вводят субъекту, нуждающемуся в нем, который имеет соответствие HLA по меньшей мере по 2 аллелям с по меньшей мере одной линией клеток в универсальном продукте клеточной терапии. Указанный субъект может представлять собой реципиента HSCT.

В некоторых случаях совокупность продуктов клеточной терапии в донорском минибанке вводят субъекту последовательно. Например, в одном случае все продукты клеточной терапии в донорском минибанке вводят одному субъекту, нуждающемуся в этом.

Пример 5. Способ установления соответствия пациента лучше всего подходящей линии клеток в донорском минибанке

Для обеспечения того, что указанному пациенту вводится наилучший возможный продукт клеточной терапии в донорском минибанке, авторы настоящего изобретения разработали алгоритм установления соответствия пациента, в котором выбирается наивысший общий уровень соответствия HLA между внесенными в банк клетками Viralym-M и (а) пациентом с HSCT и (б) донором его стволовых клеток, как обобщено на ФИГ. 1. В частности, в указанном алгоритме применяют следующий ступенчатый способ:

Стадии:

1. Получение документации, содержащей тип HLA пациента;

2. Получение документации, содержащей тип HLA стволовых клеток донора (далее именуемый «HLA трансплантата»);

3. Сравнение типов HLA пациента (стадия 1) и HLA трансплантата (стадия 2) и идентификация общих аллелей HLA;

4. Доступ к типам HLA индивидуальных линий, которые составляют донорский минибанк (например, Viralym-M);

5. Первичный балл: сравнить типы HLA каждой линии клеток в минибанке (например, Viralym-M) с общими аллелями HLA, идентифицированными на стадии 3. Каждому сравнению приписывается числовой балл на основе числа общих аллелей HLA; где чем больше общих аллелей, тем выше балл;

6. Вторичный балл: сравнить типы HLA каждой линии клеток в минибанке (например, Viralym-M) с HLA пациента (представляющего инфицированную ткань), идентифицированного на стадии 1. Каждому сравнению приписывается балл на основе числа общих аллелей HLA – чем больше общих аллелей, тем выше указанный балл. Вес данного вторичного балла составляет 50% от первичного балла;

7. Первичный (стадия 5) и вторичный балл (стадия 6) для каждой линии в пределах банка клеток складывают друг с другом;

8. Затем для лечения пациента отбирают линию клеток (например, Viralym-M) с наивысшим баллом на основе приведенного выше ранжирования (стадия 7).

При клиническом применении указанный подход продемонстрировал приемлемый профиль безопасности (4 случая *de novo* GVHD кожи степени I-II и одна вспышка GI (желудочно-кишечная) GVHD 3-ей степени) и подтверждение концепции для лечения инфекции и заболевания с 93%-ным показателем ответа, достигаемым у 54 пациентов, которых лечили до настоящего времени. В **Таблице 9** обобщены результаты по безопасности и клинические результаты всех 54 пациентов, которых лечили клетками сторонних лиц Viralym-M в клиническом испытании фазы I/II авторов настоящего изобретения.

Таблица 9. Безопасность и клинические эффекты Viralym-M у детей и взрослых

ID пациента	Возраст	Негематологические AE (степень 3-5)	Связанная с инфузией токсичность (в пределах 24 часов)	Острая GVHD (степень III-IV)	Хроническая GVHD Месяц 3-12	Клинический ответ
4002	2					CR
4243	3	Дыхательная недостаточность/гипоксия степени 4 (возможно связанная)				PR
4268	3					CR
3357	4					CR
3899	5		Лихорадка (возможно связанная)			CR
3809	6		Лихорадка (возможно связанная)			PR
4108	9					CR
4057	10					потерян для последующего наблюдения
3854	10					NE
3877	12				легкая ограниченная хроническая GVHD кожи, не	CR

ID паци-ента	Воз-раст	Негематологи-ческие AE (степень 3-5)	Связанная с инфузией токсич-ность (в пределах 24 часов)	Острая GVHD (степень III-IV)	Хроничес-кая GVHD Месяц 3-12	Клинический ответ
					требующая лечения	
4084	14					PR
4134	15			степень III (вспышка ЖК заболева-ния)		CR
4155	15					CR
4183	16					CR
3864	16					CR
4183	17	Нечеткое зрение степени 3 (неврологи-ческое-возможно связанное)				PR
		(неврологи-ческое-возможно связанное)				
					Вспышка GVHD UGI (верхний отдел ЖК тракта) через	

ID паци-ента	Воз-раст	Негематологи-ческие AE (степень 3-5)	Связанная с инфузией токсич-ность (в пределах 24 часов)	Острая GVHD (степень III-IV)	Хроничес-кая GVHD Месяц 3-12	Клинический ответ
3902	18				5 месяцев после инфузии после прекращения введения будесонида, отвечало на возобновле-ние введения 1 мг/кг стероидов	CR
4266	18		Боль в лимфатичес-ком узле степени I (возможно связанная)			CR
4271	18					PR
3827	19					CR
4168	20					CR
4281	22					PR
3755	23					PR
4206	23					NR
4224	25					CR
3840	26					CR

ID паци-ента	Воз-раст	Негематологи-ческие AE (степень 3-5)	Связанная с инфузией токсич-ность (в пределах 24 часов)	Острая GVHD (степень III-IV)	Хроничес-кая GVHD Месяц 3-12	Клинический ответ
3810	25					PR
3904	26					CR
4198	29					CR
3859	31					PR с улучшенной почечной функцией
3750	36					CR
3868	37					PR
3908	39					CR
3929	43					CR
4021	44		Лихорадка (возможно связанная)			NR
4126	45					CR
4234	50					CR
3967	51					CR
3848	54					NR
4204	55					CR
4056	55					CR
4157	56					CR
3796	58					CR
3843	59					CR
4245	59					CR
					Вспышка GVHD UGI	

ID паци-ента	Воз-раст	Негематологи-ческие AE (степень 3-5)	Связанная с инфузией токсич-ность (в пределах 24 часов)	Острая GVHD (степень III-IV)	Хроничес-кая GVHD Месяц 3-12	Клинический ответ
3870	59				после уменьшения дозы будесонида, отвечало на короткий курс преднизона	CR
2936	60					CR
4076	62					CR
3869	63					NR
3924	64					CR
3784	65					CR
3921	65					CR
3830	68					CR
4193	73					CR

Таким образом, эти данные демонстрируют, что продукты Viralym M из минибанка авторов настоящего изобретения были хорошо переносимыми и эффективными при введении хорошо соответствующему пациенту с использованием алгоритма установления соответствия пациента авторов настоящего изобретения.

Пример 6. Получение и анализ универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками

На **ФИГ. 40** приведена схематичная иллюстрация получения и применения универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками по сравнению с предшествующими способами получения и применения индивидуальных продуктов терапии антигенспецифическими Т-клетками.

Проводили исследование для получения универсального продукта антигенспецифических Т-клеток посредством объединения индивидуальных продуктов VST от доноров с отличными типами HLA. В данном исследовании провели эксперименты для установления эффективности и безопасности объединенного в пул продукта (именуемого здесь UVST). Например, эффективность измеряли посредством ELISPOT на IFNγ. Кроме того, ELISPOT на IFNγ использовали для подтверждения того, что указанный объединенный в пул продукт содержал клетки из каждой из индивидуальных линий VST, которые распознавали эпитопные пептиды, ограниченные HLA, уникальные для указанных индивидуальных линий. Наконец, измеряли безопасность посредством отсутствия аллореактивности. Также измеряли аутореактивность.

Продукты индивидуального донора получали для 3 доноров с отличными типами HLA, как показано ниже в Таблице 10. Индивидуальные линии клеток получали, как описано ранее, например, в WO2013/119947 и Tzannou et al., J Clin Oncol. 2017 Nov 1; 35(31: 3547-3557), каждая из которых включена сюда посредством ссылки во всей ее полноте и описана на ФИГ. 12. Вкратце, PBMC выделяли у здоровых серопозитивных доноров, и 250×10^6 PBMC культивировали в культуральной системе G-Rex 100M (Wilson Wolf, Saint Paul, MN) в присутствии полной среды, смесей пептидов, охватывающих аденовирус, антигенов CMV, EBV, BKV и HHV6, IL-4 и IL-7 в течение 14 суток при 37 градусах С при 5% CO_2.

Таблица 10. Типы HLA доноров

	HLA		
	A	B	DR
Донор 1	01,24	08,18	1
Донор 2	02,24	13,35	12,15
Донор 3	02,02	07,15	09,11

Для каждого донора идентифицировали уникальные иммуногенные ограниченные HLA эпитопы (UE) для облегчения отслеживания каждой линии после объединения в пул линий клеток:

- UE1 – HHV6: U11: эпитопный пептид 168 (ограниченный HLA-A1 – уникальный для донора 1)
- UE2 – HHV6: U14: эпитопный пептид 102 (ограниченный HLA-A2-DR15 – уникальный для донора 2)

• UE3 – HHV6: U14: эпитопный пептид 40 (ограниченный HLA-A2-DR11 – уникальный для донора 3)

15×10e6 VST объединяли в пул из каждого донорского продукта и комбинировали для замораживания в виде продукта UVST всего с 45×10e6 VST/флакон (соотношение 1:1:1). Сопутствующе продукты индивидуальных линий клеток от каждого донора замораживали в количестве 15×10e6 VST/флакон.

Флаконы объединенного в пул продукта UVST и индивидуальных линий VST клеток подвергали оттаиванию и оставляли на ночь, затем анализировали на идентичность и эффективность посредством ELISpot на IFNγ и на ауто- и аллореакивность посредством анализа высвобождения хрома.

ELISpot на IFNγ проводили на оттаявших (индивидуальных и объединенных в пул) VST для оценки эффективности против следующих вирусных антигенов и уникальных эпитопных (UE) пептидов:

• Вирусы (антигены) - ADV, BKV, CMV, EBV, HHV6

• Уникальные (отслеживающие) эпитопные пептиды – UE1, UE2, UE3

• Контроли:

  ○ Нерелевантный антиген – сурвивин

  ○ Нерелевантный пептид – пептид 183;

  ○ Негативный контроль – только среда

  ○ Положительный контроль – PHA (фитогемагглютинин)

Для лунок UE UVST переносили в планшеты в количестве 6×10e5/лунку. Для 5 вирусных антигенов и контролей UVST переносили в планшеты в количестве 2×10e5/лунку. Для анализа эффективности продукта индивидуального донора продукты индивидуального донора переносили в планшеты в количестве 2×10e5/лунку для каждого из 5 вирусных антигенов, контролей и UE. Единицы образования пятен (SFU)/ 2×10e5 VST/лунку количественно измеряли с использованием ридера Mabtech IRIS. Результаты данного исследования приведены в Таблице 11. UVST продуцирвали IFNγ в ответ на каждый вирусный антиген и каждый UE донора. Таким образом, идентичность каждой из индивидуальных линий VST клеток подтверждали в продукте UVST посредством анализа ELISpot на IFNγ, указывая на то, что универсальные VST являются эффективными после оттаивания.

Таблица 11. Результаты ELISpot на IFNγ

Таблица 1. (SFU/2×10^5 VST)	
	UVST
ADV	2609
BKV	1066
CMV	475
EBV	1416
HHV6	1999

	UVST	Донор 1	Донор 2	Донор 3
Донор 1 UE (168)	336	404	0	3
Донор 2 UE (102)	425	0	411	0
Донор 3 UE (40)	1919	0	0	2340
Нерелевантный антиген (SURV)	0	0	0	1
Нерелевантный пептид (183)	0	0	0	0
Негативный контроль	0	0	0	0
Положительный контроль	1750	1486	1685	2075

Анализы высвобождения хрома проводили для оценки ауто- и аллореактивности UVST против аутологических PHA бластных клеток или аллогенных PHA бластных клеток. Для получения PHA бластных клеток PBMC стимулировали фитогемагглютинином (PHA) в присутствии IL-2. UVST клетки использовали в качестве эффекторов. Мишени представляли собой аутологические PHA бластные клетки индивидуально от каждого донора (донор 1, 2 и 3) или PHA бластные клетки от неродственного донора (донор 4, показан ниже в Таблице 12, наряду с 3 донорами, как приведено выше). Клетки переносили в планшеты в соотношении эффектор:мишень 40:1 (6×10e5 UVST эффекторов на 5×10e3 мишеней).

Таблица 12. HLA донора, включая неродственного донора 4

	HLA		
	A	B	DR
Донор 1	01,24	08,18	1
Донор 2	02,24	13,35	12,15
Донор 3	02,02	07,15	09,11
Донор 4	03,03	07,27	11,15

Результаты приведены на **ФИГ. 41**. Не было аутореактивности против аутологических бластных клеток. Кроме того, не было аллореактивности против неродственного донора.

Таким образом, в совокупности результаты данного исследования продемонстрировали, что UVST являются мощными в отношении разных антигенных специфичностей и не имеют аллореактивности против клеток донора, включая клетки неродственного донора, и, таким образом, подходят для применения в качестве универсального продукта клеточной терапии.

Пример 7. Безопасность и эффективность UVST после повторного замораживания продукта

Проводили исследование для определения того, был ли оттаявший продукт UVST безопасным и эффективным после того, как указанный продукт объединяли в пул из замороженных и оттаявших линий клеток, и повторно замораживали в виде объединенного в пул универсального продукта. Безопасность оценивали по аллореактивности; эффективность оценивали по жизнеспособности и специфичности Т-клеток в указанном продукте.

Изготовление указанного продукта проводили, как изложено в Примере 6, с использованием тех же самых доноров, приведенных в Таблице 12. После получения 3 индивидуальных линий VST клеток (от доноров 1, 2 и 3) указанные индивидуальные линии клеток подвергали криоконсервированию в количестве 15×10e6 VST/флакон. На следующие сутки флакон от каждого из 3 продуктов доноров оттаивали и оставляли на ночь. Клетки ресуспендировали в среде VST, дополняли 10 нг/мл IL-7 и 400 U/мл IL-4 и переносили в 24-луночный планшет для инкубации в течение ночи при 37°C, 5% CO_2. После покоя VST от каждого донора (5×10e6 клеток от каждого) объединяли в пул в соотношении 1:1:1 с получением всего 15×10e6 VST/флакон. Указанный объединенный

в пул продукт затем подвергали криоконсервированию в виде комбинированного универсального продукта (UVST).

Затем флаконы объединенного в пул продукта UVST, а также замороженные индивидуальные VST подвергали оттаиванию. Оценивали эффективность и идентичность посредством ELISPOT на IFNγ. UVST переносили в планшет с 5 вирусными антигенами (ADV, BKV, CMB, EBV и HHV6), уникальными отслеживающими эпитопными пептидами (UE1, UE2 и UE3) и контролями, как описано выше в Примере 6. В Таблице 13 приведены результаты данного исследования, которые продемонстрировали, что объединенные, повторно замороженные и оттаявшие UVST продуцировали IFNγ в ответ на каждый вирусный антиген и UE каждого донора. Таким образом, идентичность и эффективность каждой из индивидуальных линий VST поддерживалась в пределах замороженного и оттаявшего продукта UVST, полученного из оттаявших индивидуальных линий клеток.

Таблица 13. (SFU/2×10^5 VST)				
	UVST			
ADV	3620			
BKV	1416			
CMV	391			
EBV	1610			
HHV6	3796			
	UVST	Донор 1	Донор 2	Донор 3
Донор 1 UE (168)	442	563	6	0
Донор 2 UE (102)	472	4	416	3
Донор 3 UE (40)	2014	0	0	3072
Нерелевантный антиген (SURV)	0	4	0	0
Нерелевантный пептид (183)	9	0	5	0
Негативный контроль	0	0	0	0
Положительный контроль	2110	1665	1646	1559

Результаты данного исследования показывают, что могут быть получены и

оценены индивидуальные линии VST для подтверждения идентичности, эффективности и/или других параметров контроля качества, и затем заморожены перед объединением в пул; и что впоследствии указанные индивидуальные линии клеток могут быть подвергнулы оттаиванию и объединены в пул с получением универсального продукта VST, который затем можно заморозить для последующего применения. Соответственно, существующие банки индивидуальных продуктов VST можно подвергать оттаиванию и объединять в пул с получением UVST, которую можно затем подвергать криоконсервированию для последующего применения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Популяция антигенспецифических Т-клеток, содержащая совокупность линий антигенспецифических Т-клеток, имеющих происхождение от совокупности разных доноров, где тип HLA (человеческий лейкоцитарный антиген) каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA.

2. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 1, где линии антигенспецифических Т-клеток являются клональными, олигоклональными или поликлональными.

3. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 1 или п. 2, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по двум аллелям HLA.

4. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-3, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по трем аллелям HLA.

5. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-4, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса I.

6. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 5, где тип HLA каждого донора отличается от типа HLA по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям HLA класса I.

7. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 6, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA-A и одному аллелю HLA-B.

8. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 1, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса II.

9. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 8, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям, независимо выбранным из группы, состоящей из HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и HLA-DRB1.

10. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 9, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA-DRB1 и одному аллелю HLA-DQB1.

11. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-10, где совокупность доноров имеет по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-A, по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-B, по меньшей мере 2 разных аллеля DRB1 и/или по меньшей мере 2 разных аллеля DQB1.

12. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-11, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 3 или более чем 3 разных доноров.

13. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-12, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 5 или более чем 5 разных доноров.

14. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 12 или п. 13, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере двух из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA.

15. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-14, где тип HLA каждого донора отличается от каждого другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA.

16. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-15, где по меньшей мере один из совокупности разных доноров соответствует по меньшей мере по двум аллелям HLA наибольшему возможному числу пациентов в популяции перспективных пациентов.

17. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-16, где по меньшей мере один из совокупности разных доноров соответствует по меньшей мере по четырем аллелям HLA наибольшему возможному числу пациентов в популяции перспективных пациентов.

18. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-16, где указанная популяция содержит Т-клетки, которые соответствуют по каждому аллелю HLA одному или более чем одному пациенту в популяции перспективных пациентов.

19. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-18, где

совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров.

20. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-19, где линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после получения каждой линии клеток.

21. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-20, где линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после того, как каждую линию клеток индивидуально оценивают на идентичность, жизнеспособность, стерильность, фенотип, эффективность и/или аллореактивность линии клеток.

22. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где эффективность каждой линии клеток оценивают по продукции IFNγ (интерферон-гамма).

23. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 22, где продукцию IFNγ определяют анализом ELISPOT (метод иммуноферментных пятен) на IFNγ.

24. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где стерильность каждой линии клеток определяют посредством анализа на бактериальное загрязнение, грибное загрязнение, микоплазму и/или уровни эндотоксинов.

25. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 24, где каждая линия клеток имеет уровень эндотоксина менее чем 5 EU (единица эндотоксина)/мл.

26. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где фенотип каждой линии клеток оценивают посредством проточной цитометрии.

27. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где каждая линия клеток содержит по меньшей мере 90% клеток CD3+.

28. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где аллореактивность каждой линии антигенспецифических Т-клеток против неродственных и/или частично соответствующих по HLA, и/или несоответствующих по HLA клеток-мишеней оценивают посредством анализа высвобождения хрома.

29. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 20, где пул линий клеток типирован по HLA.

30. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 20, где пул линий клеток проанализирован на функциональные ответы с использованием HLA-ограниченных

эпитопов.

31. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-30, где линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после того, как каждая линия клеток была индивидуально подвергнута криоконсервированию и затем, впоследствии, оттаиванию.

32. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 20-31, где объединенные в пул линии антигенспецифических Т-клеток являются криоконсервированными.

33. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 20-31, где линии Т-клеток объединяют в пул в соотношении приблизительно 1:1.

34. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-32, содержащая от приблизительно 10×10^6 до приблизительно 100×10^6 Т-клеток.

35. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 34, содержащая приблизительно 45×10^6 Т-клеток.

36. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-35, где Т-клетки являются специфическими в отношении одного или более чем одного вирусного антигена, или одного или более чем одного опухоль-ассоциированного антигена.

37. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36, где один или более чем один вирусный антиген имеет происхождение от одного или более чем одного вируса, выбранного из группы, состоящей из вируса Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловируса (CMV), аденовируса (AdV), вируса BK (BKV), вируса JC (вирус Джона Каннингема), вируса герпеса человека 6 (HHV6), респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека (hMPV), парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, вируса простого герпеса (HSV), вируса гепатита B (HBV), вируса гепатита C (HCV), вируса гепатита D (HDV), вируса папилломы человека (HPV), вируса иммунодефицита человека (HIV), вируса Т-клеточного лейкоза типа 1 человека (HTLV1), вируса герпеса 8 человека (HHV8), вируса Западного Нила, вируса Зика и вируса Эбола.

38. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от

BKV, CMV, AdV, EBV и HHV-6.

39. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа и hMPV.

40. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36, п. 37 или п. 38, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от коронавируса.

41. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 40, где коронавирус представляет собой SARS-Cov-2.

42. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от HBV.

43. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от HHV-8.

44. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36, где один или более чем один опухоль-ассоциированный антиген, выбран из группы, состоящей из следующего: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутантный Ras, gp 100, мутантный p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

45. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-44, где одна или более чем одна Т-клетка в указанной популяции экспрессирует экзогенную молекулу.

46. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 45, где указанная экзогенная молекула представляет собой терапевтическое средство.

47. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 46, где указанное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое лекарственное средство, цитокин, хемокин, низкомолекулярный ингибитор роста опухоли или молекулу, которая секвестрирует молекулы иммуноингибиторов.

48. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 45-47, где указанная экзогенная молекула представляет собой трансгенную молекулу.

49. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 48, где указанная трансгенная молекула содержит внеклеточный связывающий домен, трансмембранный домен и сигнальный домен.

50. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 49, где указанный внеклеточный связывающий домен является специфическим в отношении ракового антигена.

51. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 48, где указанная трансгенная молекула представляет собой химерный рецептор антигена (CAR), рецептор Т-клетки (TCR) или рецептор NK-клетки.

52. Композиция, содержащая популяцию линий антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-51.

53. Композиция по п. 52, содержащая среду для криоконсервирования.

54. Композиция по п. 53, где среда для криоконсервирования содержит человеческий сывороточный альбумин, сбалансированный солевой раствор Хэнка (HBSS) и приблизительно 10% (об./об.) диметилсульфоксида (DMSO).

55. Композиция по п. 54, где среда для криоконсервирования содержит приблизительно 50% (об./об.) 25%-ного человеческого сывороточного альбумина и приблизительно 40% (об./об.) HBSS.

56. Универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащий популяцию антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-51, который демонстрирует отсутствие аллореактивности к частично соответствующим по HLA и/или не соответствующим по HLA клеткам-мишениям.

57. Универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками по

п. 56, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток содержит достаточное разнообразие HLA по отношению друг к другу таким образом, что они в совокупности обеспечивают по меньшей мере одну линию антигенспецифических Т-клеток, которая соответствует по меньшей мере по 2 аллелям HLA более чем 95% популяции перспективных пациентов.

58. Способ лечения заболевания или состояния, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, популяции линий антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-51, композиции по любому из пп. 52-55 или универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками по п. 56 или п. 57.

59. Способ по п. 58, где указанные популяция, композиция или продукт Т-клеточной терапии содержат смесь Т-клеток, где указанная смесь Т-клеток содержит Т-клетки, которые частично соответствуют, и Т-клетки, которые полностью не соответствуют типу HLA пациента.

60. Способ лечения заболевания или состояния, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, универсальной терапии антигенспецифическими Т-клетками, включающей введение субъекту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток от совокупности разных доноров, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA, и где указанный способ включает введение указанному пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток в одной сессии дозирования.

61. Способ по п. 60, где введение в одной сессии дозирования включает введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток одновременно в одной и той же композиции.

62. Способ по п. 60, где введение в одной сессии дозирования включает введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток в отдельных композициях, вводимых последовательно.

63. Способ по п. 62, где последовательные введения осуществляют в пределах 1 часа друг от друга.

64. Способ по любому из пп. 58-63, где популяция или совокупность антигенспецифических Т-клеток содержит смесь Т-клеток, содержащую Т-клетки, которые частично соответствуют типу HLA пациента, и Т-клетки, которые полностью

не соответствуют типу HLA пациента.

65. Способ по любому из пп. 58-64, включающий введение пациенту дозы от приблизительно 10×10^6 до приблизительно 100×10^6 антигенспецифических Т-клеток.

66. Способ по п. 65, включающий введение пациенту дозы приблизительно 45×10^6 Т-клеток.

67. Способ по любому из пп. 58-66, где заболевание представляет собой вирусную инфекцию.

68. Способ по п. 67, где антигенспецифические Т-клетки представляют собой вирусоспецифические Т-клетки (VST), и где в указанном способе достигается снижение вирусной нагрузки у пациента и/или уменьшение или устранение симптомов заболевания, ассоциированного с указанной вирусной инфекцией.

69. Способ по п. 67, где антигенспецифические Т-клетки представляют собой VST, и где в указанном способе достигается более быстрое разрешение вирусной инфекции относительно пациента, который не получал VST.

70. Способ по любому из пп. 58-69, где пациент имеет ослабленный иммунитет.

71. Способ по п. 70, где пациент имеет ослабленный иммунитет из-за лечения, которое указанный пациент получал для лечения указанного заболевания или состояния, или другого заболевания или состояния.

72. Способ по п. 70, где пациент имеет ослабленный иммунитет в силу возраста.

73. Способ по п. 72, где пациент имеет ослабленный иммунитет в силу юного возраста или пожилого возраста.

74. Способ по п. 71, где указанное состояние представляет собой иммунодефицит.

75. Способ по п. 74, где иммунодефицит представляет собой первичный иммунодефицит.

76. Способ по п. 71, где пациент нуждается в трансплантации.

77. Способ по п. 71, где заболевание представляет собой рак.

78. Способ по п. 77, где рак выбран из группы, состоящей из рака легкого, рака кишечника, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака желчного протока, рака поджелудочной железы, рака яичка, рака простаты, рака яичника, рака молочной железы, меланомы, саркомы мягкой ткани, лимфомы, лейкоза и множественной

миеломы.

79. Способ получения универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащего популяцию антигенспецифических Т-клеток, включающий:

(1) культивирование мононуклеарных клеток от каждого донора из совокупности доноров в присутствии одного или более чем одного цитокина и одного или более чем одного антигена, с получением совокупности индивидуальных клеточных линий размноженных антигенспецифических Т-клеток, и

(2) объединение в пул указанных индивидуальных клеточных линий с получением универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками.

80. Способ по п. 79, где мононуклеарные клетки представляют собой мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC).

81. Способ по п. 79, где указанная популяция представляет собой клональную, олигоклональную или поликлональную популяцию.

82. Способ по п. 79, дополнительно включающий замораживание-оттаивание, где каждую линию клеток подвергают криоконсервированию и затем подвергают оттаиванию перед объединением в пул (2).

83. Способ по любому из пп. 79-82, дополнительно включающий замораживание пула линий клеток, полученного в (2).

84. Способ по п. 83, где пул линий клеток подвергают криоконсервированию в виде универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками.

85. Способ по любому из пп. 82-84, где линии клеток или универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками подвергают криоконсервированию в среде для криоконсервирования.

86. Способ по п. 85, где среда для криоконсервирования содержит человеческий сывороточный альбумин, сбалансированный солевой раствор Хэнка (HBSS) и приблизительно 10% (об./об.) диметилсульфоксида (DMSO).

87. Способ по п. 86, где среда для криоконсервирования содержит приблизительно 50% (об./об.) 25%-ного человеческого сывороточного альбумина и приблизительно 40% (об./об.) HBSS.

88. Способ по п. 79, дополнительно включающий стадию фильтрования.

89. Способ по п. 88, включающий фильтрование каждой линии клеток, полученной в (1).

90. Способ по п. 88, включающий фильтрование объединенного в пул универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, полученного в (2).

91. Способ по п. 88, включающий фильтрование каждой линии клеток и/или фильтрование объединенного в пул универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками до и/или после стадии замораживания-оттаивания.

92. Способ по п. 79, дополнительно включающий трансфицирование трансгеном одной или более чем одной индивидуальной линии клеток, полученной в (1).

93. Способ по п. 79, дополнительно включающий трансфицирование трансгеном объединенных в пул линий клеток, полученных в (2).

94. Способ по п. 93, где указанный трансген кодирует химерный рецептор антигена (CAR), рецептор Т-клетки (TCR) или рецептор NK-клетки.

95. Способ по п. 79, где культивирование осуществляется в сосуде, содержащем газопроницаемую культуральную поверхность.

96. Способ по п. 95, где указанный сосуд представляет собой биореактор GRex.

97. Способ по п. 79, где один или более чем один цитокин представляет собой IL4 и/или IL7.

98. Способ по п. 97, где цитокины включают IL4 и IL7 и не включают IL2.

99. Способ по п. 79, где один или более чем один антиген находится в форме

100. (1) цельного белка, (2) смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или полную последовательность каждого антигена, или (3) комбинации (1) и (2).

101. Способ по п. 99, где антигены содержат по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более чем 20 разных смесей пептидов.

102. Способ по п. 79, где один или более чем один антиген представляет собой вирусный антиген или опухоль-ассоциированный антиген.

103. Способ по п. 101, где каждый антиген в культуре представляет собой вирусный антиген.

104. Способ по п. 102, где вирусные антигены имеют происхождение от вируса,

выбранного из EBV, CMV, аденовируса, BK, вируса JC, HHV6, RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, LCMV, вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека, парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, HSV, HBV, HCV, HDV, HPV, HIV, HTLV1, HHV8, вируса Западного Нила, вируса Зика и вируса Эбола.

105. Способ по п. 101, где каждый антиген в культуре представляет собой опухоль-ассоциированный антиген.

106. Способ по п. 104, где опухоль-ассоциированные антигены представляют собой один или более чем один из следующих: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутантный Ras, gp 100, мутантный p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

107. Способ по любому из пп. 79-105, где совокупность доноров отобрана способом, включающим следующее:

(а) сравнение типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов;

(б) определение, на основе сравнения на стадии (а), первого донора с наибольшим соответствием, определенного как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей HLA с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов;

(в) отбор первого донора с наибольшим соответствием для включения в универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками;

(г) удаление из первого пула доноров указанного первого донора с наибольшим соответствием, с получением посредством этого второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием;

(д) удаление из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием, с получением посредством этого второй совокупности перспективных пациентов, состоящей из каждого пациента из первой совокупности перспективных пациентов за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием; и

(е) повторение стадий (а)-(д) один или более дополнительных раз со всеми донорами и перспективными пациентами, которые еще не были удалены в соответствии со стадиями (г) и (д), где каждый раз отбирают дополнительного донора с наибольшим соответствием в соответствии со стадией (в) таким образом, что дополнительного донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров в соответствии со стадией (г); и каждый раз, когда последующего донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров, каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с этим последующим донором с наибольшим соответствием, удаляют из соответствующей ему совокупности перспективных пациентов в соответствии со стадией (д); посредством этого последовательно увеличивая число отобранных доноров с наибольшим соответствием для включения в универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками на 1 после каждого цикла указанного способа, и, посредством этого, уменьшая число пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла указанного способа согласно их соответствию HLA с отобранными донорами с наибольшим соответствием; где стадии (а)-(д) повторяют, пока в совокупности перспективных пациентов не остается желательная процентная доля первой популяции перспективных пациентов, или пока в пуле доноров не останется доноров.

108. Универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками,

полученный способом по любому из пп. 79-106.

109. Композиция, содержащая универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками по п. 10.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

(согласно статье 19 PCT)

1. Популяция антигенспецифических Т-клеток, содержащая совокупность линий антигенспецифических Т-клеток, имеющих происхождение от совокупности разных доноров, где тип HLA (человеческий лейкоцитарный антиген) каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA.

2. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 1, где линии антигенспецифических Т-клеток являются клональными, олигоклональными или поликлональными.

3. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 1 или п. 2, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по двум аллелям HLA.

4. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-3, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по трем аллелям HLA.

5. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-4, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса I.

6. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 5, где тип HLA каждого донора отличается от типа HLA по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям HLA класса I.

7. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 6, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA-A и одному аллелю HLA-B.

8. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 1, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по одному или более чем одному аллелю HLA класса II.

9. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 8, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по двум или более чем двум аллелям, независимо выбранным из группы, состоящей из HLA-DPA1, HLA-

DPB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRA и HLA-DRB1.

10. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 9, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA-DRB1 и одному аллелю HLA-DQB1.

11. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-10, где совокупность доноров имеет по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-A, по меньшей мере 2 разных аллеля HLA-B, по меньшей мере 2 разных аллеля DRB1 и/или по меньшей мере 2 разных аллеля DQB1.

12. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-11, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 3 или более чем 3 разных доноров.

13. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-12, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 5 или более чем 5 разных доноров.

14. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 12 или п. 13, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере двух из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA.

15. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-14, где тип HLA каждого донора отличается от каждого другого донора по меньшей мере по одному аллелю HLA.

16. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-15, где по меньшей мере один из совокупности разных доноров соответствует по меньшей мере по двум аллелям HLA наибольшему возможному числу пациентов в популяции перспективных пациентов.

17. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-16, где по меньшей мере один из совокупности разных доноров соответствует по меньшей мере по четырем аллелям HLA наибольшему возможному числу пациентов в популяции перспективных пациентов.

18. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-16, где указанная популяция содержит Т-клетки, которые соответствуют по каждому аллелю HLA одному или более чем одному пациенту в популяции перспективных пациентов.

19. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-18, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток имеет происхождение от 15 или менее доноров, 10 или менее доноров, или 5 или менее доноров.

20. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-19, где линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после получения каждой линии клеток.

21. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-20, где линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после того, как каждую линию клеток индивидуально оценивают на идентичность, жизнеспособность, стерильность, фенотип, эффективность и/или аллореактивность линии клеток.

22. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где эффективность каждой линии клеток оценивают по продукции IFNγ (интерферон-гамма).

23. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 22, где продукцию IFNγ определяют анализом ELISPOT (метод иммуноферментных пятен) на IFNγ.

24. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где стерильность каждой линии клеток определяют посредством анализа на бактериальное загрязнение, грибное загрязнение, микоплазму и/или уровни эндотоксинов.

25. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 24, где каждая линия клеток имеет уровень эндотоксина менее чем 5 EU (единица эндотоксина)/мл.

26. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где фенотип каждой линии клеток оценивают посредством проточной цитометрии.

27. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где каждая линия клеток содержит по меньшей мере 90% клеток CD3+.

28. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 21, где аллореактивность каждой линии антигенспецифических Т-клеток против неродственных и/или частично соответствующих по HLA, и/или не соответствующих по HLA клеток-мишеней оценивают посредством анализа высвобождения хрома.

29. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 20, где пул линий клеток типирован по HLA.

30. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 20, где пул линий клеток проанализирован на функциональные ответы с использованием HLA-ограниченных эпитопов.

31. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-30, где линии антигенспецифических Т-клеток от каждого донора объединяют в пул после того, как каждая линия клеток была индивидуально подвергнута криоконсервированию и затем, впоследствии, оттаиванию.

32. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 20-31, где объединенные в пул линии антигенспецифических Т-клеток являются криоконсервированными.

33. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 20-31, где линии Т-клеток объединяют в пул в соотношении приблизительно 1:1.

34. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-32, содержащая от приблизительно 10×10^6 до приблизительно 100×10^6 Т-клеток.

35. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 34, содержащая приблизительно 45×10^6 Т-клеток.

36. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-35, где Т-клетки являются специфическими в отношении одного или более чем одного вирусного антигена, или одного или более чем одного опухоль-ассоциированного антигена.

37. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36, где один или более чем один вирусный антиген имеет происхождение от одного или более чем одного вируса, выбранного из группы, состоящей из вируса Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловируса (CMV), аденовируса (AdV), вируса BK (BKV), вируса JC (вирус Джона Каннингема), вируса герпеса человека 6 (HHV6), респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека (hMPV), парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, вируса простого герпеса (HSV), вируса гепатита B (HBV), вируса гепатита C (HCV), вируса гепатита D (HDV), вируса папилломы человека (HPV), вируса иммунодефицита человека (HIV), вируса Т-клеточного лейкоза типа 1 человека (HTLV1), вируса герпеса 8 человека (HHV8), вируса Западного Нила, вируса Зика и вируса Эбола.

38. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от BKV, CMV, AdV, EBV и HHV-6.

39. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа и hMPV.

40. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36, п. 37 или п. 38, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от коронавируса.

41. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 40, где коронавирус представляет собой SARS-Cov-2.

42. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от HBV.

43. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36 или п. 37, где один или более чем один вирусный антиген содержит антигены, имеющие происхождение от HHV-8.

44. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 36, где один или более чем один опухоль-ассоциированный антиген, выбран из группы, состоящей из следующего: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутантный Ras, gp 100, мутантный p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

45. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-44, где одна

или более чем одна Т-клетка в указанной популяции экспрессирует экзогенную молекулу.

46. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 45, где указанная экзогенная молекула представляет собой терапевтическое средство.

47. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 46, где указанное терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое лекарственное средство, цитокин, хемокин, низкомолекулярный ингибитор роста опухоли или молекулу, которая секвестрирует молекулы иммуноингибиторов.

48. Популяция антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 45-47, где указанная экзогенная молекула представляет собой трансгенную молекулу.

49. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 48, где указанная трансгенная молекула содержит внеклеточный связывающий домен, трансмембранный домен и сигнальный домен.

50. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 49, где указанный внеклеточный связывающий домен является специфическим в отношении ракового антигена.

51. Популяция антигенспецифических Т-клеток по п. 48, где указанная трансгенная молекула представляет собой химерный рецептор антигена (CAR), рецептор Т-клетки (TCR) или рецептор NK-клетки.

52. Композиция, содержащая популяцию линий антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-51.

53. Композиция по п. 52, содержащая среду для криоконсервирования.

54. Композиция по п. 53, где среда для криоконсервирования содержит человеческий сывороточный альбумин, сбалансированный солевой раствор Хэнка (HBSS) и приблизительно 10% (об./об.) диметилсульфоксида (DMSO).

55. Композиция по п. 54, где среда для криоконсервирования содержит приблизительно 50% (об./об.) 25%-ного человеческого сывороточного альбумина и приблизительно 40% (об./об.) HBSS.

56. Универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащий популяцию антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-51, который демонстрирует отсутствие аллореактивности к частично соответствующим по

HLA и/или не соответствующим по HLA клеткам-мишениям.

57. Универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками по п. 56, где совокупность линий антигенспецифических Т-клеток содержит достаточное разнообразие HLA по отношению друг к другу таким образом, что они в совокупности обеспечивают по меньшей мере одну линию антигенспецифических Т-клеток, которая соответствует по меньшей мере по 2 аллелям HLA более чем 95% популяции перспективных пациентов.

58. Способ лечения заболевания или состояния, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, популяции линий антигенспецифических Т-клеток по любому из пп. 1-51, композиции по любому из пп. 52-55 или универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками по п. 56 или п. 57.

59. Способ по п. 58, где указанные популяция, композиция или продукт Т-клеточной терапии содержат смесь Т-клеток, где указанная смесь Т-клеток содержит Т-клетки, которые частично соответствуют, и Т-клетки, которые полностью не соответствуют типу HLA пациента.

60. Способ лечения заболевания или состояния, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, универсальной терапии антигенспецифическими Т-клетками, включающей введение субъекту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток от совокупности разных доноров, где тип HLA каждого донора отличается от по меньшей мере одного из других доноров по меньшей мере по одному аллелю HLA, и где указанный способ включает введение указанному пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток в одной сессии дозирования.

61. Способ по п. 60, где введение в одной сессии дозирования включает введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток одновременно в одной и той же композиции.

62. Способ по п. 60, где введение в одной сессии дозирования включает введение пациенту совокупности линий антигенспецифических Т-клеток в отдельных композициях, вводимых последовательно.

63. Способ по п. 62, где последовательные введения осуществляют в пределах 1 часа друг от друга.

64. Способ по любому из пп. 58-63, где популяция или совокупность

антигенспецифических Т-клеток содержит смесь Т-клеток, содержащую Т-клетки, которые частично соответствуют типу HLA пациента, и Т-клетки, которые полностью не соответствуют типу HLA пациента.

65. Способ по любому из пп. 58-64, включающий введение пациенту дозы от приблизительно 10×10^6 до приблизительно 100×10^6 антигенспецифических Т-клеток.

66. Способ по п. 65, включающий введение пациенту дозы приблизительно 45×10^6 Т-клеток.

67. Способ по любому из пп. 58-66, где заболевание представляет собой вирусную инфекцию.

68. Способ по п. 67, где антигенспецифические Т-клетки представляют собой вирусоспецифические Т-клетки (VST), и где в указанном способе достигается снижение вирусной нагрузки у пациента и/или уменьшение или устранение симптомов заболевания, ассоциированного с указанной вирусной инфекцией.

69. Способ по п. 67, где антигенспецифические Т-клетки представляют собой VST, и где в указанном способе достигается более быстрое разрешение вирусной инфекции относительно пациента, который не получал VST.

70. Способ по любому из пп. 58-69, где пациент имеет ослабленный иммунитет.

71. Способ по п. 70, где пациент имеет ослабленный иммунитет из-за лечения, которое указанный пациент получал для лечения указанного заболевания или состояния, или другого заболевания или состояния.

72. Способ по п. 70, где пациент имеет ослабленный иммунитет в силу возраста.

73. Способ по п. 72, где пациент имеет ослабленный иммунитет в силу юного возраста или пожилого возраста.

74. Способ по п. 71, где указанное состояние представляет собой иммунодефицит.

75. Способ по п. 74, где иммунодефицит представляет собой первичный иммунодефицит.

76. Способ по п. 71, где пациент нуждается в трансплантации.

77. Способ по п. 71, где заболевание представляет собой рак.

78. Способ по п. 77, где рак выбран из группы, состоящей из рака легкого, рака кишечника, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака желчного протока, рака

поджелудочной железы, рака яичка, рака простаты, рака яичника, рака молочной железы, меланомы, саркомы мягкой ткани, лимфомы, лейкоза и множественной миеломы.

79. Способ получения универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, содержащего популяцию антигенспецифических Т-клеток, включающий:

(1) культивирование мононуклеарных клеток от каждого донора из совокупности доноров в присутствии одного или более чем одного цитокина и одного или более чем одного антигена, с получением совокупности индивидуальных клеточных линий размноженных антигенспецифических Т-клеток, и

(2) объединение в пул указанных индивидуальных клеточных линий с получением универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками.

80. Способ по п. 79, где мононуклеарные клетки представляют собой мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC).

81. Способ по п. 79, где указанная популяция представляет собой клональную, олигоклональную или поликлональную популяцию.

82. Способ по п. 79, дополнительно включающий замораживание-оттаивание, где каждую линию клеток подвергают криоконсервированию и затем подвергают оттаиванию перед объединением в пул (2).

83. Способ по любому из пп. 79-82, дополнительно включающий замораживание пула линий клеток, полученного в (2).

84. Способ по п. 83, где пул линий клеток подвергают криоконсервированию в виде универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками.

85. Способ по любому из пп. 82-84, где линии клеток или универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками подвергают криоконсервированию в среде для криоконсервирования.

86. Способ по п. 85, где среда для криоконсервирования содержит человеческий сывороточный альбумин, сбалансированный солевой раствор Хэнка (HBSS) и приблизительно 10% (об./об.) диметилсульфоксида (DMSO).

87. Способ по п. 86, где среда для криоконсервирования содержит приблизительно 50% (об./об.) 25%-ного человеческого сывороточного альбумина и

приблизительно 40% (об./об.) HBSS.

88. Способ по п. 79, дополнительно включающий стадию фильтрования.

89. Способ по п. 88, включающий фильтрование каждой линии клеток, полученной в (1).

90. Способ по п. 88, включающий фильтрование объединенного в пул универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками, полученного в (2).

91. Способ по п. 88, включающий фильтрование каждой линии клеток и/или фильтрование объединенного в пул универсального продукта терапии антигенспецифическими Т-клетками до и/или после стадии замораживания-оттаивания.

92. Способ по п. 79, дополнительно включающий трансфицирование трансгеном одной или более чем одной индивидуальной линии клеток, полученной в (1).

93. Способ по п. 79, дополнительно включающий трансфицирование трансгеном объединенных в пул линий клеток, полученных в (2).

94. Способ по п. 93, где указанный трансген кодирует химерный рецептор антигена (CAR), рецептор Т-клетки (TCR) или рецептор NK-клетки.

95. Способ по п. 79, где культивирование осуществляется в сосуде, содержащем газопроницаемую культуральную поверхность.

96. Способ по п. 95, где указанный сосуд представляет собой биореактор GRex.

97. Способ по п. 79, где один или более чем один цитокин представляет собой IL4 и/или IL7.

98. Способ по п. 97, где цитокины включают IL4 и IL7 и не включают IL2.

99. Способ по п. 79, где один или более чем один антиген находится в форме (1) цельного белка, (2) смеси пептидов, содержащей ряд перекрывающихся пептидов, охватывающих часть или полную последовательность каждого антигена, или (3) комбинации (1) и (2).

100. Способ по п. 99, где антигены содержат по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более чем 20 разных смесей пептидов.

101. Способ по п. 79, где один или более чем один антиген представляет собой вирусный антиген или опухоль-ассоциированный антиген.

102. Способ по п. 100, где каждый антиген в культуре представляет собой

вирусный антиген.

103. Способ по п. 101, где вирусные антигены имеют происхождение от вируса, выбранного из EBV, CMV, аденовируса, BK, вируса JC, HHV6, RSV, вируса гриппа, вируса парагриппа, бокавируса, коронавируса, LCMV, вируса паротита, вируса кори, метапневмовируса человека, парвовируса B, ротавируса, вируса клеток Меркеля, HSV, HBV, HCV, HDV, HPV, HIV, HTLV1, HHV8, вируса Западного Нила, вируса Зика и вируса Эбола.

104. Способ по п. 100, где каждый антиген в культуре представляет собой опухоль-ассоциированный антиген.

105. Способ по п. 103, где опухоль-ассоциированные антигены представляют собой один или более чем один из следующих: CEA, MHC, CTLA-4, gp100, мезотелин, PD-L1, TRP1, CD40, EGFP, Her2, TCR альфа, trp2, TCR, MUC1, cdr2, ras, 4-1BB, CT26, GITR, OX40, TGF-α, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, PSMA, GD2, Melan A/MART1, мутантный Ras, gp 100, мутантный p53, протеиназа 3 (PR1), bcr-abl, тирозиназа, сурвивин, PSA, hTERT, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (слитый ген TMPRSS2 ETS), NA17, PAX3, ALK, рецептор андрогена, циклин B1, полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, фукозил GM1, мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, карбоангидраза IX, PAX5, OY-TES1, белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2 и антиген 1, родственный Fos.

106. Способ по любому из пп. 79-104, где совокупность доноров отобрана способом, включающим следующее:

(а) сравнение типа HLA каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров с каждым из первой совокупности перспективных пациентов из первой популяции перспективных пациентов;

(б) определение, на основе сравнения на стадии (а), первого донора с наибольшим соответствием, определенного как донор из первого пула доноров, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей HLA с наибольшим числом пациентов в первой совокупности перспективных пациентов;

(в) отбор первого донора с наибольшим соответствием для включения в универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками;

(г) удаление из первого пула доноров указанного первого донора с наибольшим соответствием, с получением посредством этого второго пула доноров, состоящего из каждого из первой совокупности потенциальных доноров из первого пула доноров, за исключением первого донора с наибольшим соответствием;

(д) удаление из первой совокупности перспективных пациентов каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием, с получением посредством этого второй совокупности перспективных пациентов, состоящей из каждого пациента из первой совокупности перспективных пациентов за исключением каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с первым донором с наибольшим соответствием; и

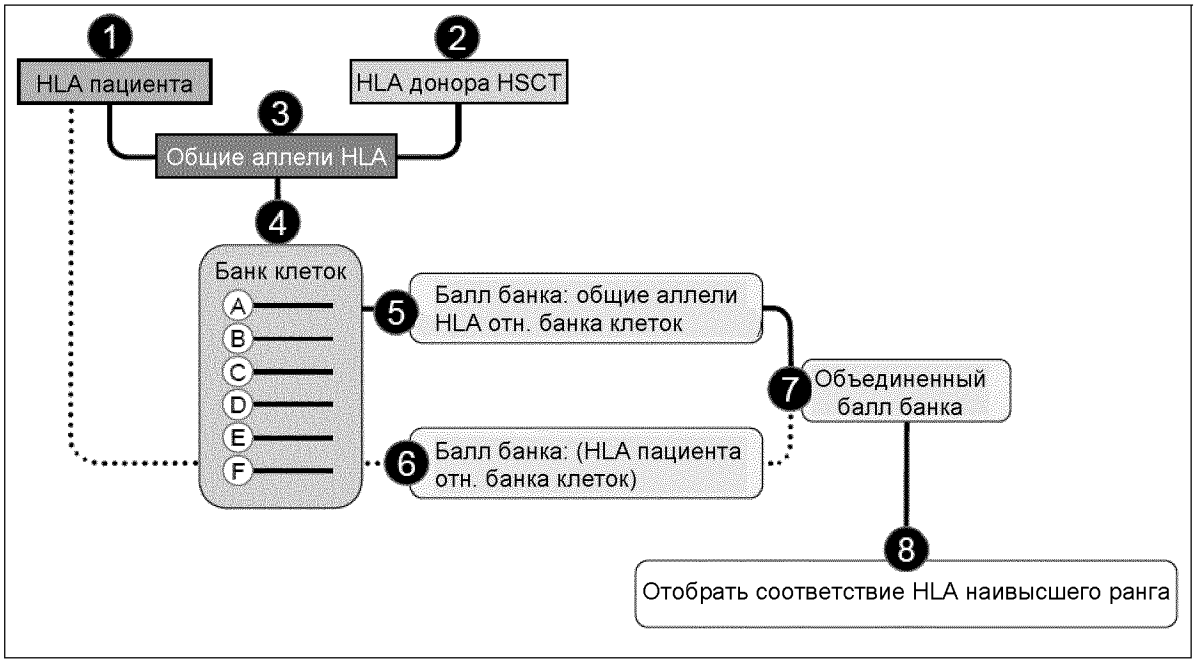
(е) повторение стадий (а)-(д) один или более дополнительных раз со всеми донорами и перспективными пациентами, которые еще не были удалены в соответствии со стадиями (г) и (д), где каждый раз отбирают дополнительного донора с наибольшим соответствием в соответствии со стадией (в) таким образом, что дополнительного донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров в соответствии со стадией (г); и каждый раз, когда последующего донора с наибольшим соответствием удаляют из соответствующего ему пула доноров, каждого перспективного пациента, который имеет 2 или более чем 2 соответствия аллелей с этим последующим донором с наибольшим соответствием, удаляют из соответствующей ему совокупности перспективных пациентов в соответствии со стадией (д); посредством этого последовательно увеличивая число отобранных доноров с наибольшим соответствием для включения в универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками на 1 после каждого цикла указанного способа, и, посредством этого, уменьшая число пациентов совокупности перспективных пациентов в популяции пациентов после каждого цикла указанного способа согласно их соответствию HLA с отобранными донорами с наибольшим соответствием; где стадии (а)-(д) повторяют, пока в совокупности перспективных пациентов не остается желательная процентная доля первой популяции перспективных пациентов, или пока в

пуле доноров не останется доноров.

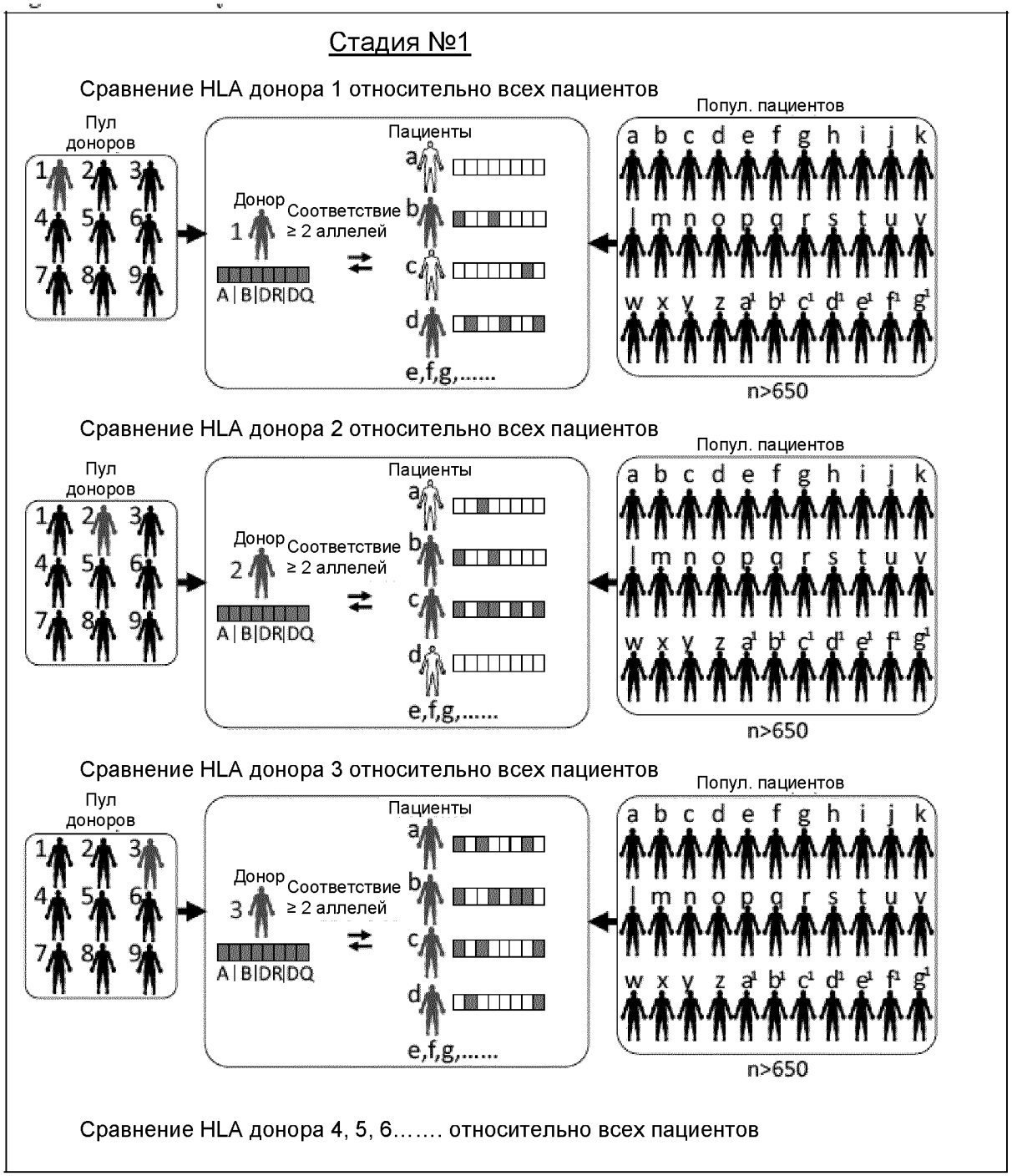
107. Универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками, полученный способом по любому из пп. 79-105.

108. Композиция, содержащая универсальный продукт терапии антигенспецифическими Т-клетками по п. 10.

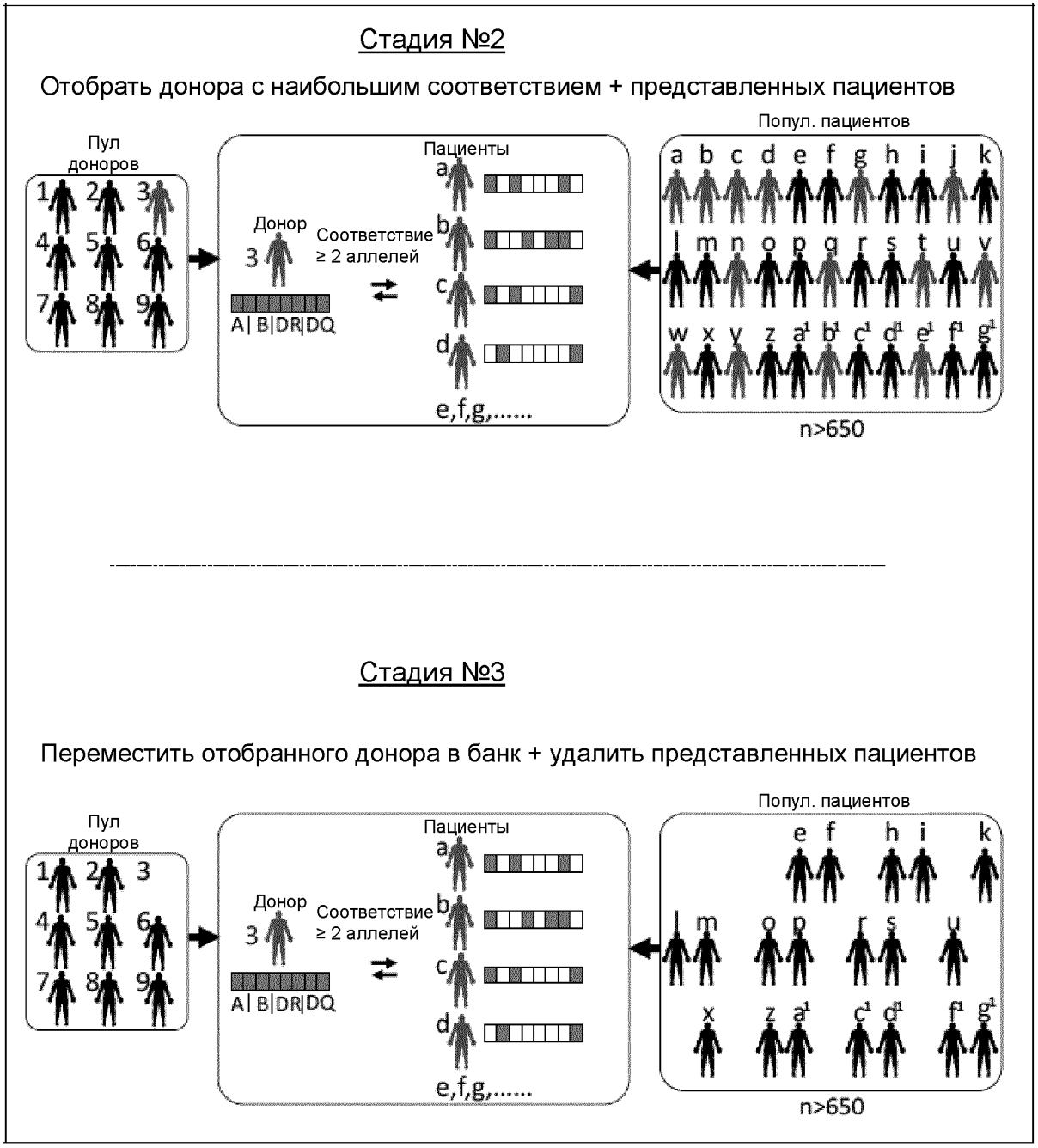
ФИГ. 1


1
HLA пациента
2
HLA донора HSCT
3
Общие аллели HLA
4
Банк клеток
A
B
C
D
E
F
5
Балл банка: общие аллели HLA отн. банка клеток
6
Балл банка: (HLA пациента отн. банка клеток)
7
Объединенный балл банка
8
Отобрать соответствие HLA наивысшего ранга

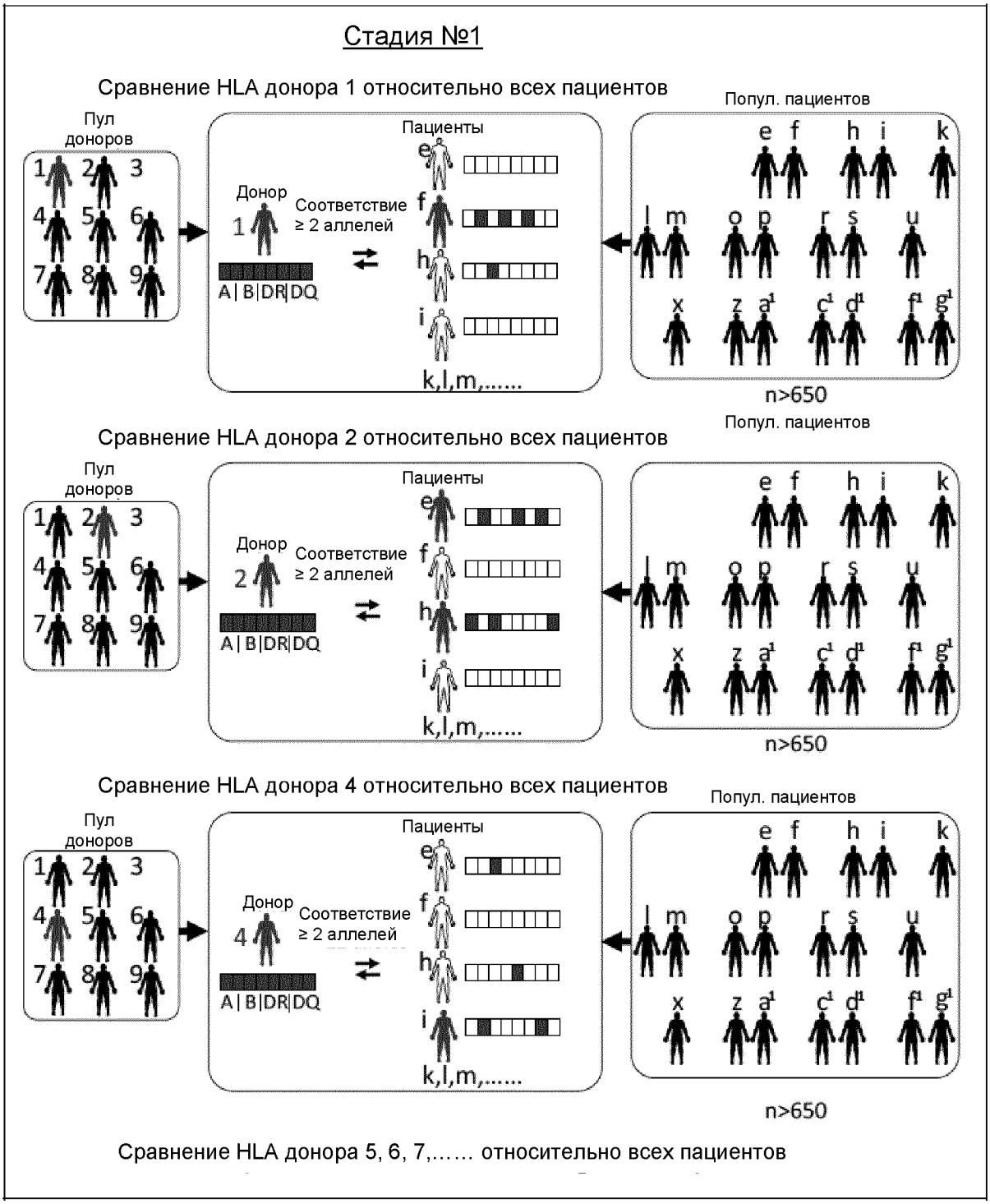
ФИГ. 2


Стадия №1
Сравнение HLA донора 1 относительно всех пациентов
Пул доноров
Пациенты
Попул. пациентов
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A | B | DR | DQ
e,f,g,.....
n>650
Сравнение HLA донора 2 относительно всех пациентов
Сравнение HLA донора 3 относительно всех пациентов
Сравнение HLA донора 4, 5, 6……. относительно всех пациентов

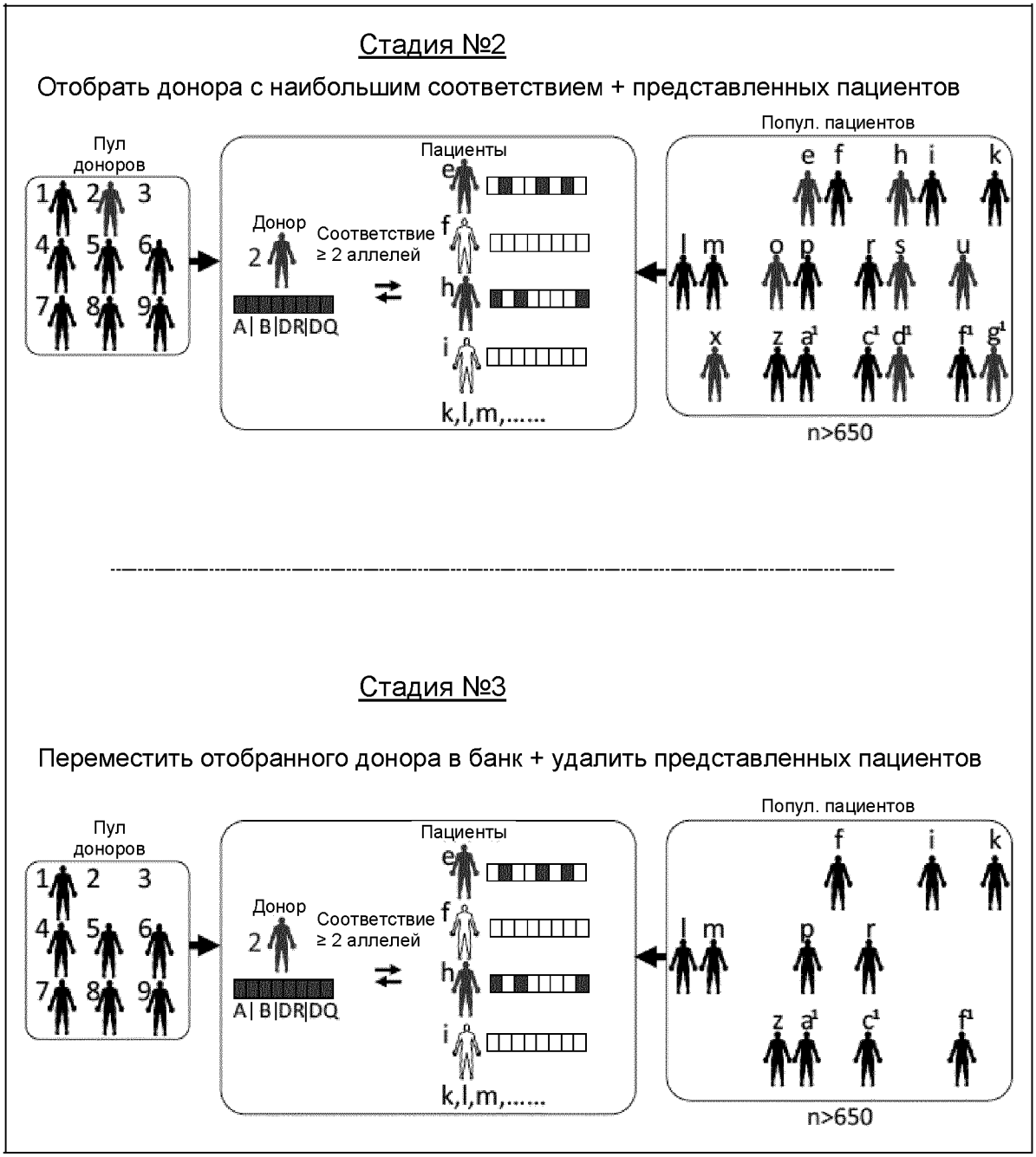
ФИГ. 3


Стадия №2
Отобрать донора с наибольшим соответствием + представленных пациентов
Пул доноров
Пациенты
Попул. пациентов
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A| B|DR|DQ
e,f,g,.....
n>650
Стадия №3
Переместить отобранного донора в банк + удалить представленных пациентов
Пул доноров
Пациенты
Попул. пациентов
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A| B|DR|DQ
e,f,g,.....
n>650

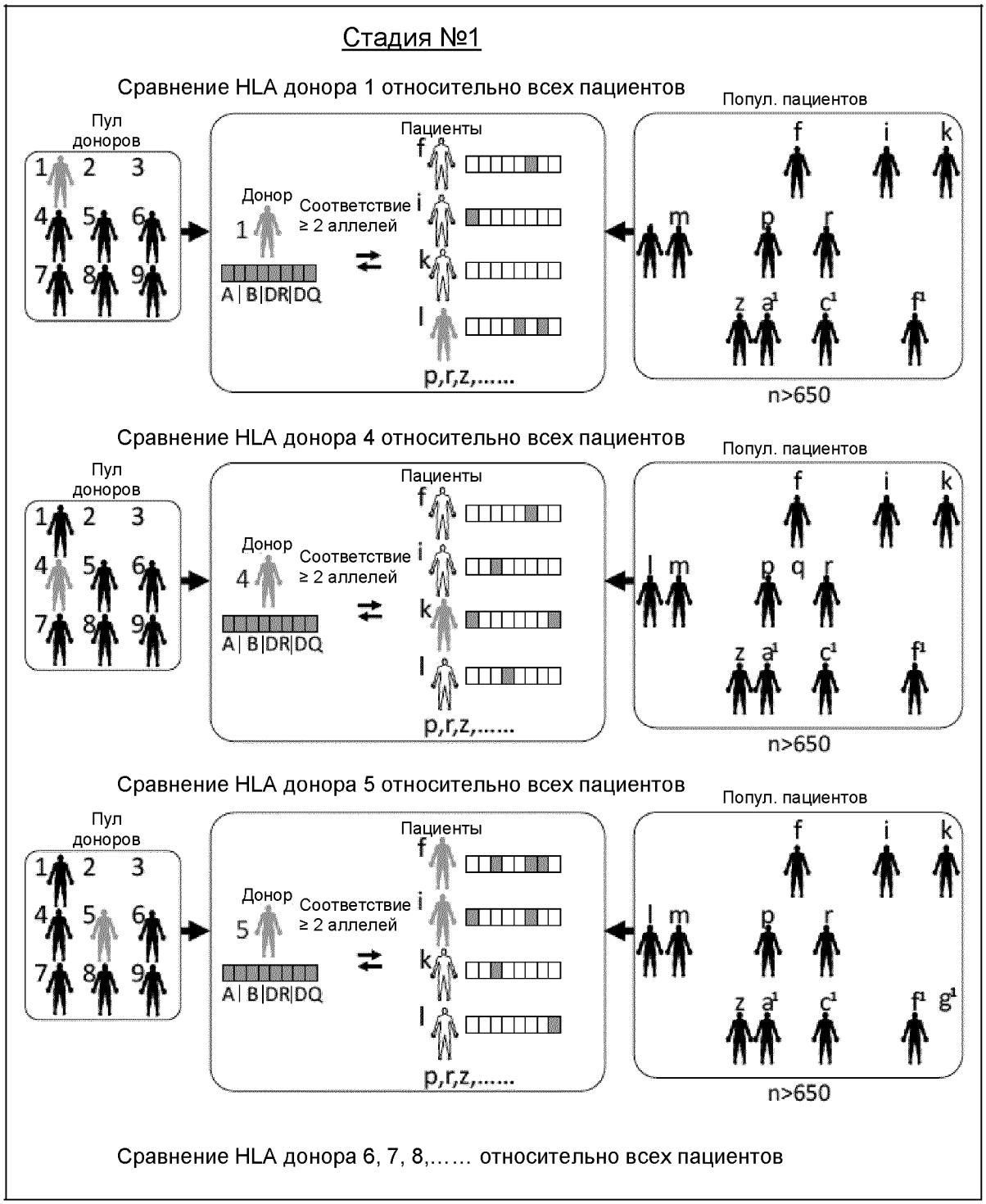
ФИГ. 4


Стадия №1
Сравнение HLA донора 1 относительно всех пациентов
Пул доноров
Пациенты
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A | B | DR | DQ
k,l,m,.....
Попул. пациентов
n>650
Сравнение HLA донора 2 относительно всех пациентов
Сравнение HLA донора 4 относительно всех пациентов
Сравнение HLA донора 5, 6, 7,..... относительно всех пациентов

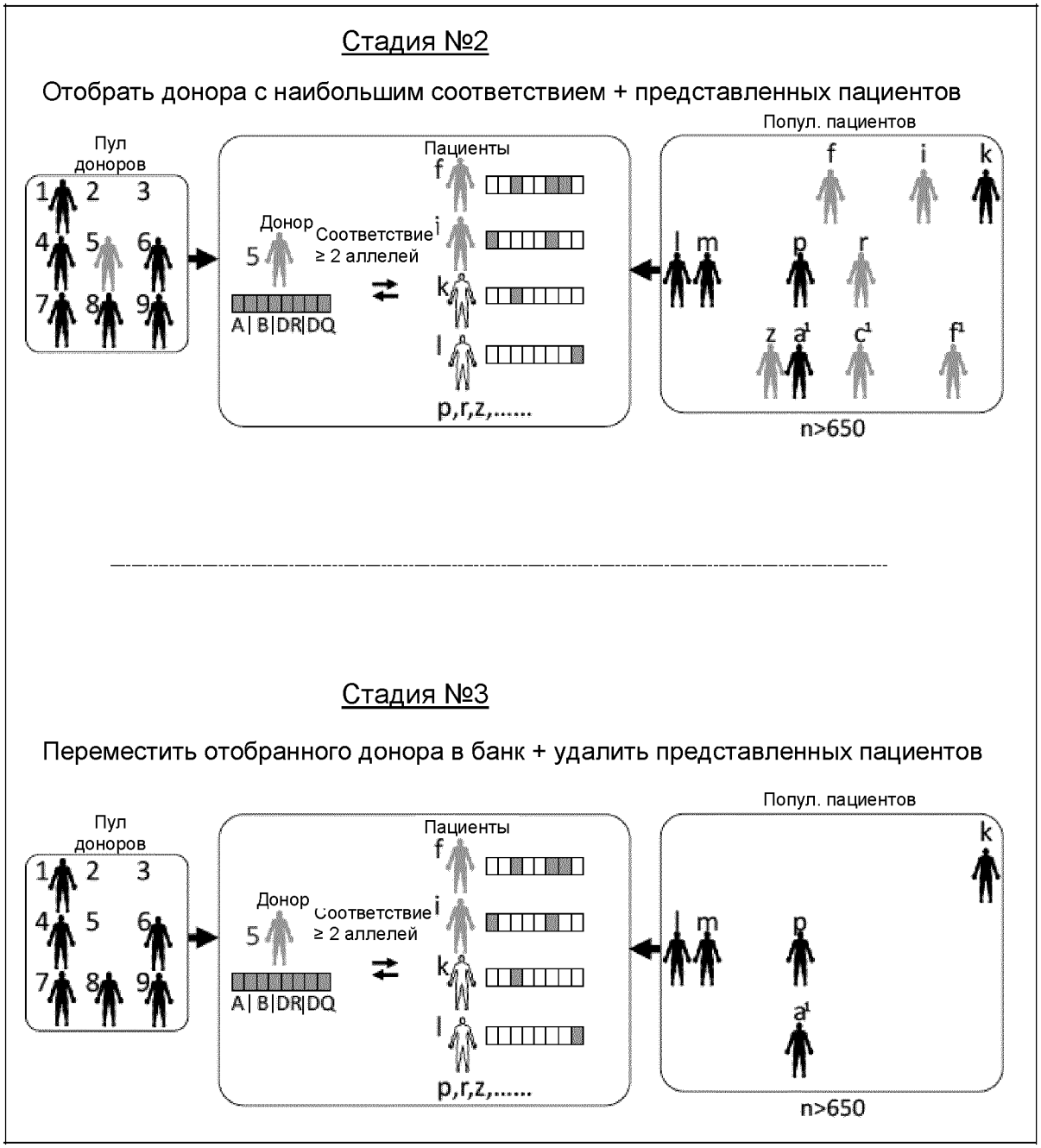
ФИГ. 5


Стадия №2
Отобрать донора с наибольшим соответствием + представленных пациентов
Пул доноров
Пациенты
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A| B|DR|DQ
k,l,m,……
Попул. пациентов
n>650
Стадия №3
Переместить отобранного донора в банк + удалить представленных пациентов
Пул доноров
Пациенты
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A| B|DR|DQ
k,l,m,……
Попул. пациентов
n>650

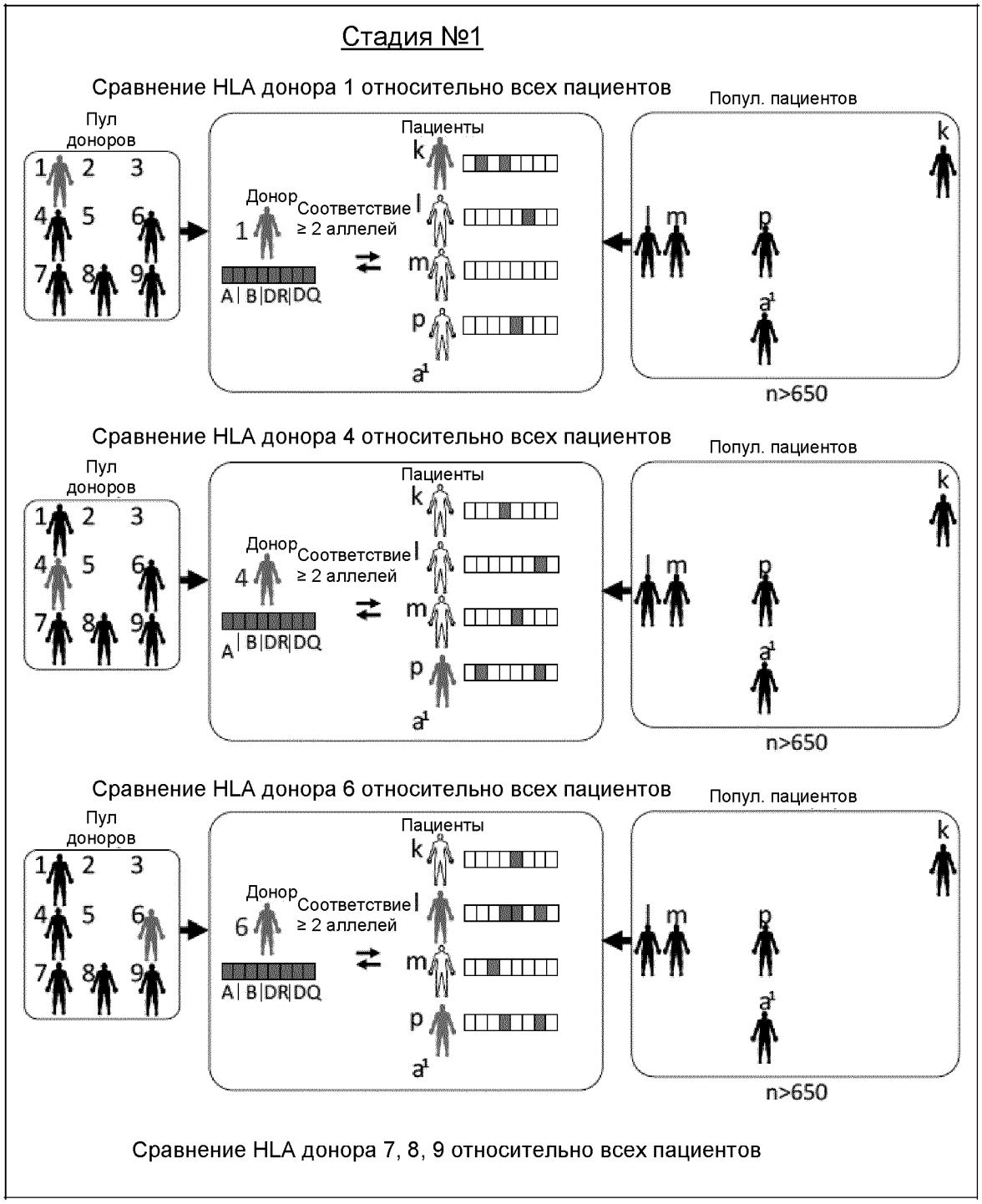
ФИГ. 6


Стадия №1
Сравнение HLA донора 1 относительно всех пациентов
Пул доноров
Пациенты
Попул. пациентов
Донор
Соответствие ≥ 2 аллелей
A | B | DR | DQ
p,r,z,……
n>650
Сравнение HLA донора 4 относительно всех пациентов
Сравнение HLA донора 5 относительно всех пациентов
Сравнение HLA донора 6, 7, 8,…… относительно всех пациентов

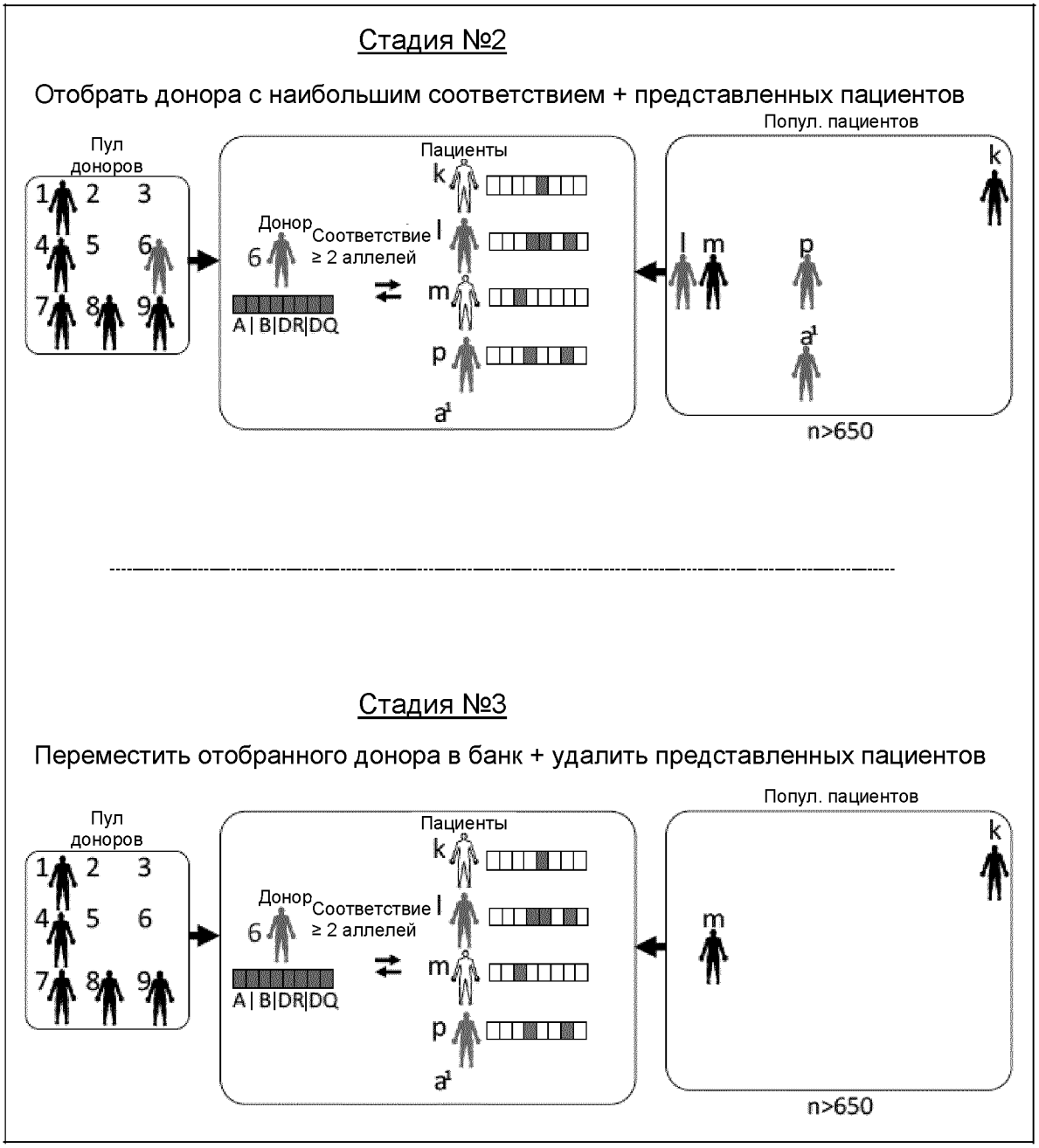
ФИГ. 7


Стадия №2
Отобрать донора с наибольшим соответствием + представленных пациентов
Пул доноров
1 2 3
4 5 6
7 8 9
Пациенты
f
i
k
l
p,r,z,.....
Донор
5
Соответствие
≥ 2 аллелей
A|B|DR|DQ
Попул. пациентов
f i k
l m p r
z a¹ c¹ f¹
n>650
Стадия №3
Переместить отобранного донора в банк + удалить представленных пациентов
Пул доноров
1 2 3
4 5 6
7 8 9
Пациенты
f
i
k
l
p,r,z,.....
Донор
5
Соответствие
≥ 2 аллелей
A|B|DR|DQ
Попул. пациентов
k
l m p
a¹
n>650

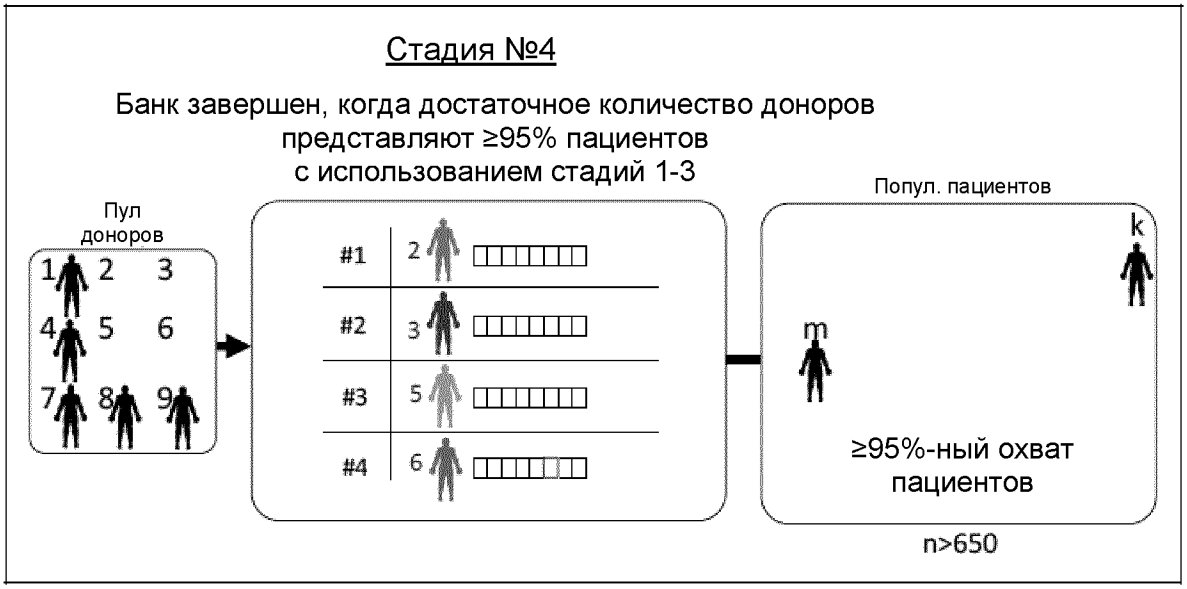
ФИГ. 8


Стадия №1
Сравнение HLA донора 1 относительно всех пациентов
Пул доноров
1 2 3
4 5 6
7 8 9
Пациенты
Донор
1
Соответствие
≥ 2 аллелей
A | B | DR | DQ
k
l
m
p
a¹
Попул. пациентов
n>650
Сравнение HLA донора 4 относительно всех пациентов
Донор
4
Сравнение HLA донора 6 относительно всех пациентов
Донор
6
Сравнение HLA донора 7, 8, 9 относительно всех пациентов

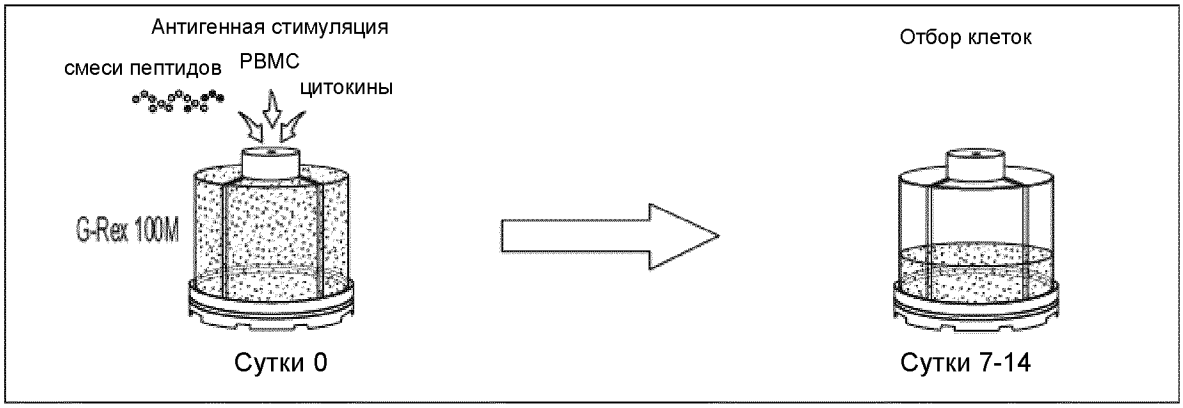
ФИГ. 9


Стадия №2
Отобрать донора с наибольшим соответствием + представленных пациентов
Пул доноров
1 2 3
4 5 6
7 8 9
Пациенты
k
l
m
p
a¹
Донор
6
Соответствие
≥ 2 аллелей
A | B|DR|DQ
Попул. пациентов
k
l m
p
a¹
n>650
Стадия №3
Переместить отобранного донора в банк + удалить представленных пациентов
Пул доноров
1 2 3
4 5 6
7 8 9
Пациенты
k
l
m
p
a¹
Донор
6
Соответствие
≥ 2 аллелей
A | B|DR|DQ
Попул. пациентов
k
m
n>650

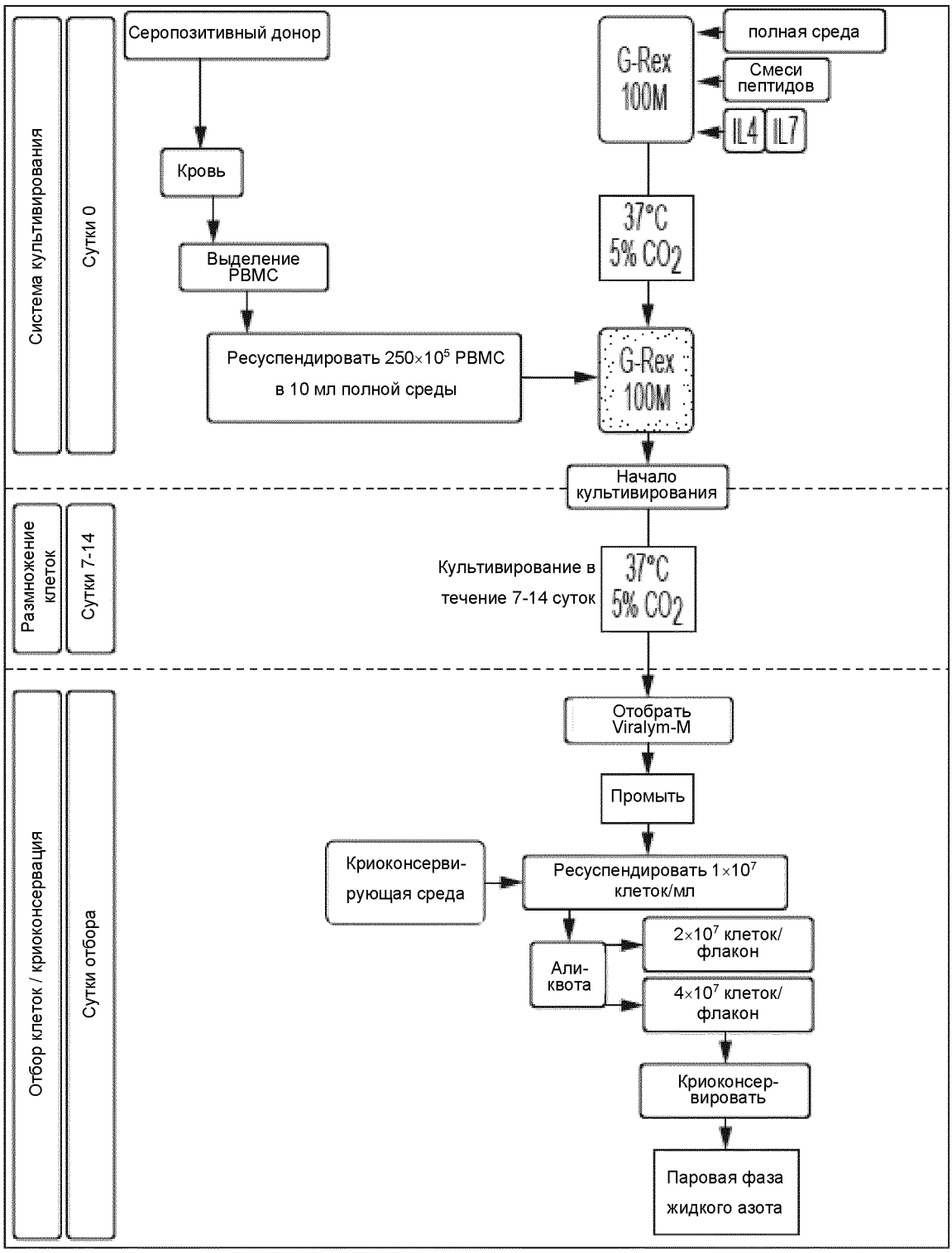
ФИГ. 10


Стадия №4
Банк завершен, когда достаточное количество доноров представляют ≥95% пациентов с использованием стадий 1-3
Пул доноров
1 2 3
4 5 6
7 8 9
#1
#2
#3
#4
Попул. пациентов
k
m
≥95%-ный охват пациентов
n>650

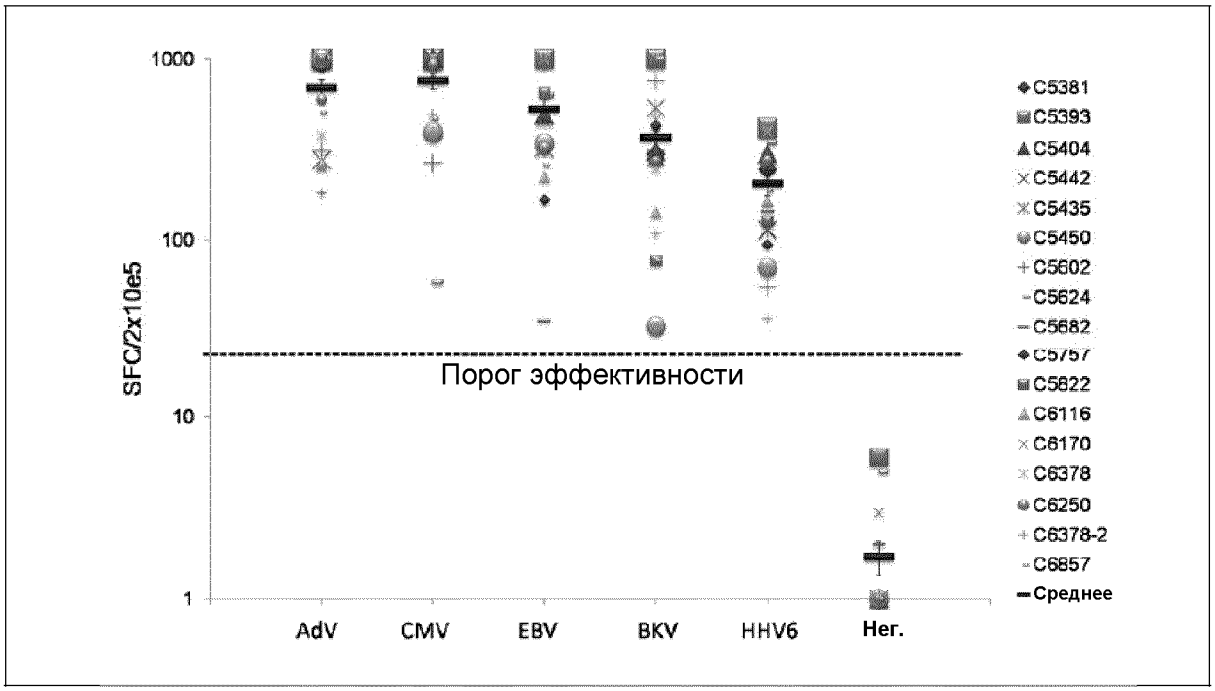
ФИГ. 11


Антигенная стимуляция
смеси пептидов
PBMC
цитокины
G-Rex 100M
Сутки 0
Отбор клеток
Сутки 7-14

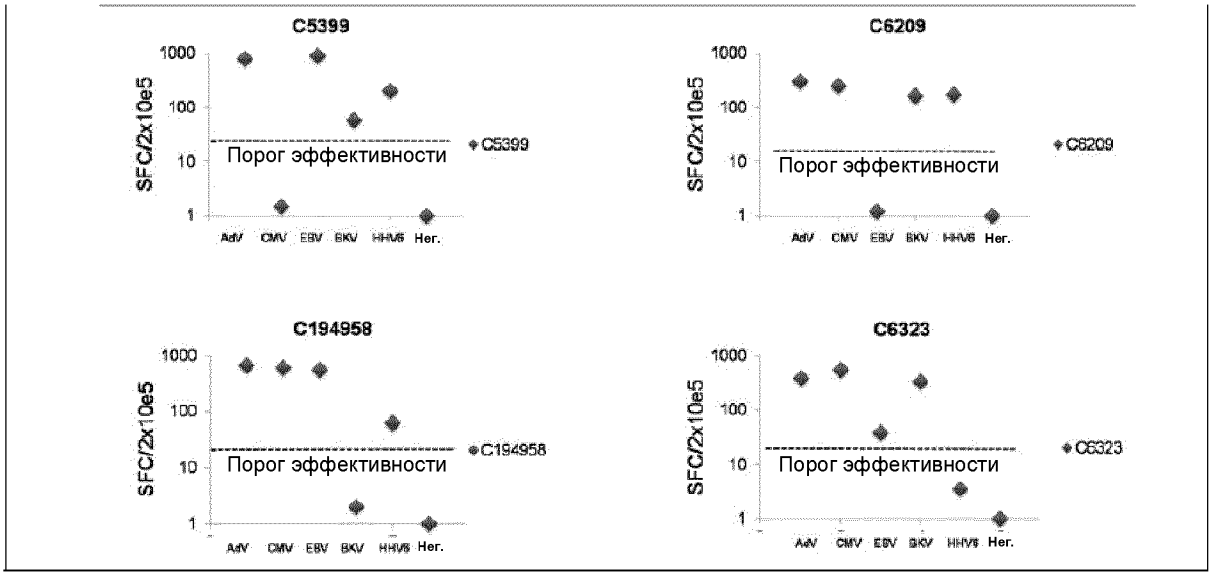
ФИГ. 12


Система культивирования
Сутки 0
Серопозитивный донор
Кровь
Выделение PBMC
Ресуспендировать 250×10^5 PBMC в 10 мл полной среды
G-Rex 100M
полная среда
Смеси пептидов
IL4
IL7
37°C 5% CO2
G-Rex 100M
Начало культивирования
Размножение клеток
Сутки 7-14
Культивирование в течение 7-14 суток
37°C 5% CO2
Отбор клеток / криоконсервация
Сутки отбора
Отобрать Viralym-M
Промыть
Криоконсерви-рующая среда
Ресуспендировать 1×10^7 клеток/мл
Али-квота
2×10^7 клеток/ флакон
4×10^7 клеток/ флакон
Криоконсер-вировать
Паровая фаза жидкого азота

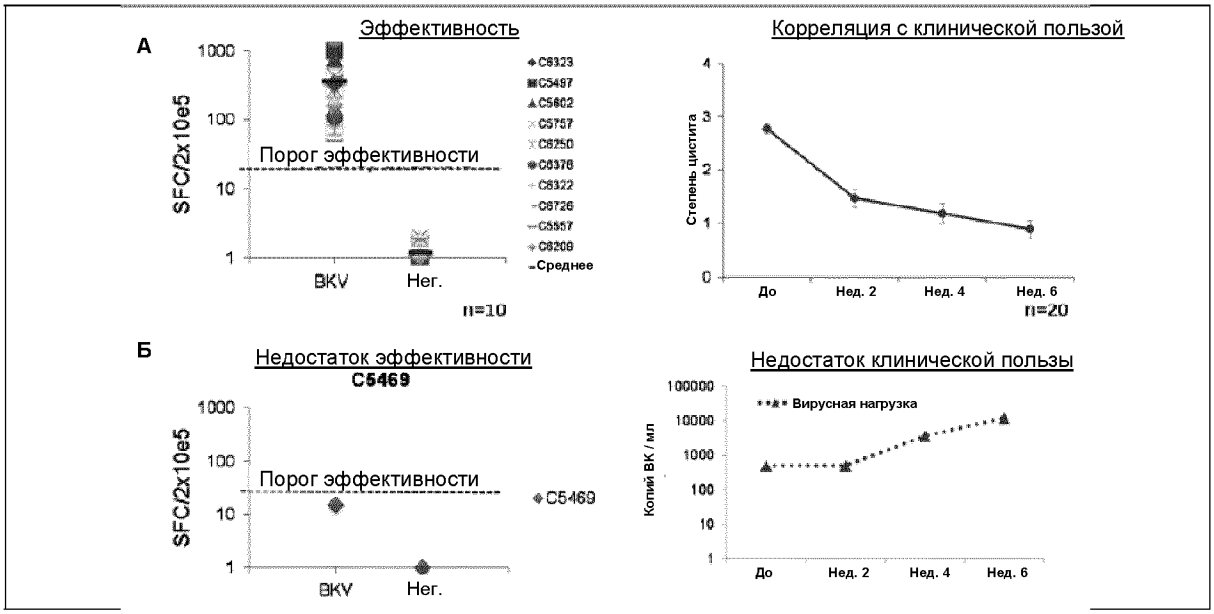
ФИГ. 13


1000
100
10
1
SFC/2x10e5
Порог эффективности
AdV
CMV
EBV
BKV
HHV6
Нег.
C5381
C5393
C5404
C5442
C5435
C5450
C5602
C5624
C5682
C5757
C5622
C6116
C6170
C6378
C6250
C6378-2
C6857
Среднее

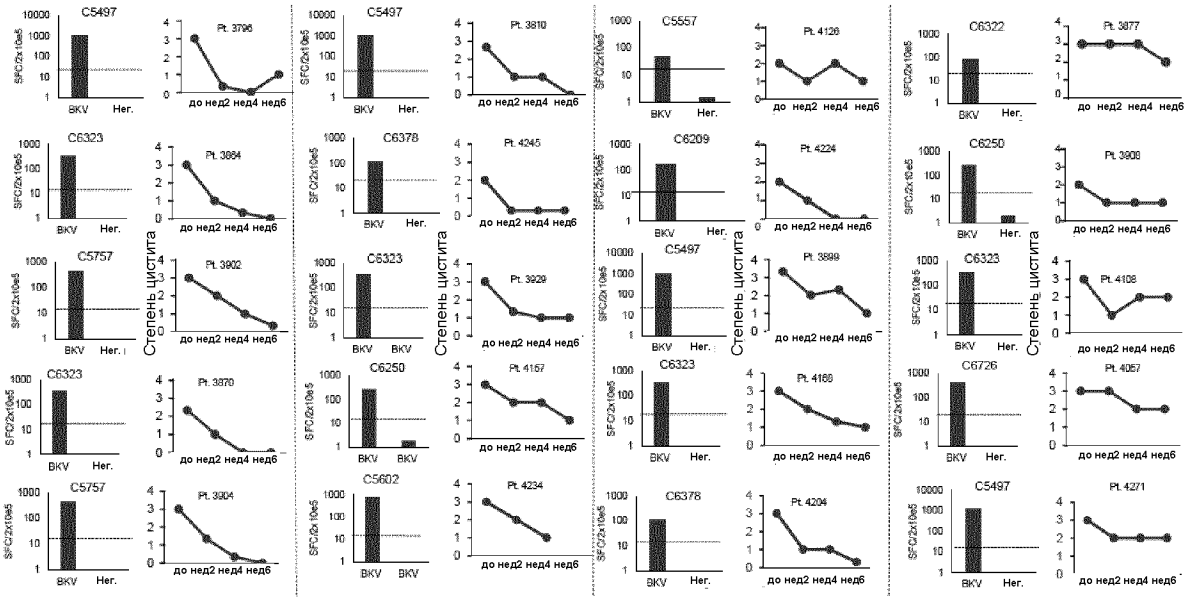
ФИГ. 14


C5399
C6209
C194958
C6323
SFC/2x10e5
1000
100
10
1
Порог эффективности
C5399
C6209
C194958
C6323
AdV
CMV
EBV
BKV
HHV6
Her.

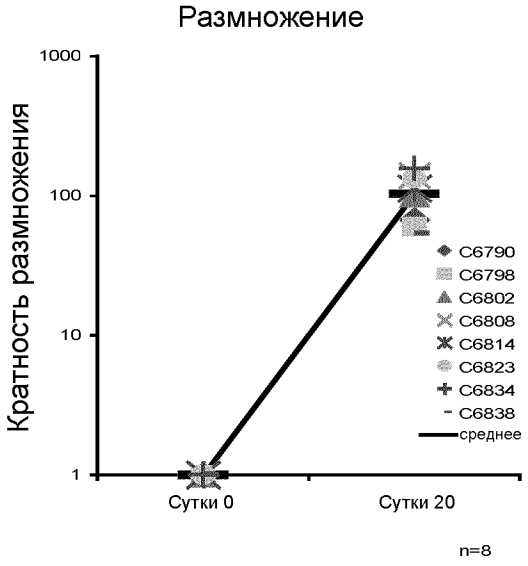
ФИГ. 15


А
Эффективность
SFC/2x10e5
1000
100
10
1
Порог эффективности
BKV
Нег.
n=10
C5323
C5497
C5602
C5757
C6250
C6376
C6322
C6726
C5557
C6209
Среднее
Корреляция с клинической пользой
Степень цистита
4
3
2
1
0
До
Нед. 2
Нед. 4
Нед. 6
n=20
Б
Недостаток эффективности
C5469
SFC/2x10e5
1000
100
10
1
Порог эффективности
BKV
Нег.
C5469
Недостаток клинической пользы
Копий BK / мл
100000
10000
1000
100
10
1
Вирусная нагрузка
До
Нед. 2
Нед. 4
Нед. 6

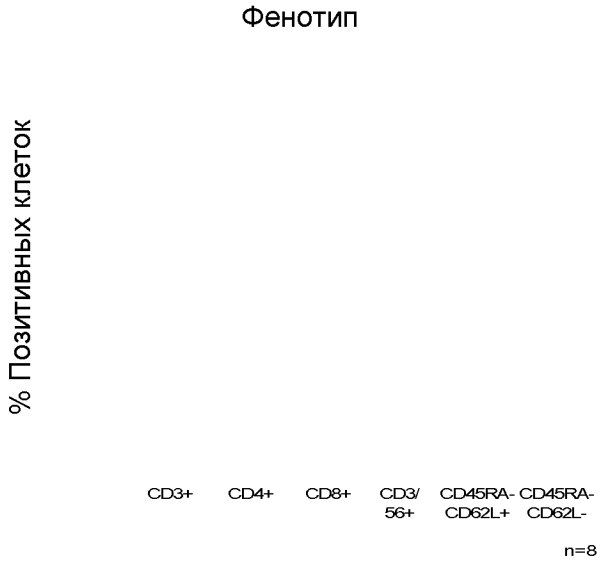
ФИГ. 16


C5497
Pt. 3796
C6323
Pt. 3884
C5757
Pt. 3902
C6323
Pt. 3870
C5757
Pt. 3904
C5497
Pt. 3810
C6378
Pt. 4245
C6323
Pt. 3929
C6250
Pt. 4157
C5602
Pt. 4234
C5557
Pt. 4126
C6209
Pt. 4224
C5497
Pt. 3899
C6323
Pt. 4188
C6378
Pt. 4204
C6322
Pt. 3877
C6250
Pt. 3908
C6323
Pt. 4108
C6726
Pt. 4057
C5497
Pt. 4271
SFC/2x10e5
BKV
Нег.
до нед2 нед4 нед6
Степень цистита

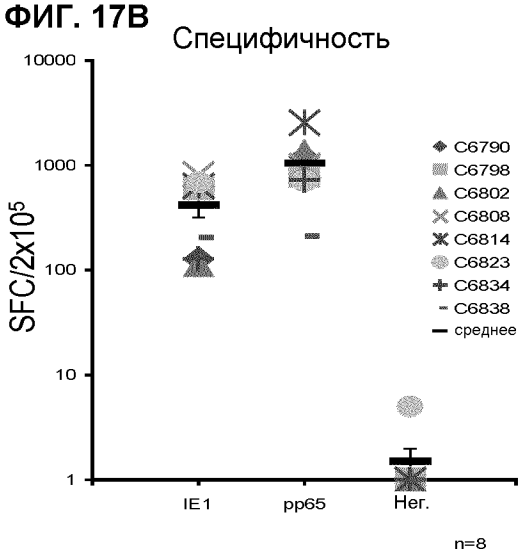
ФИГ. 17А



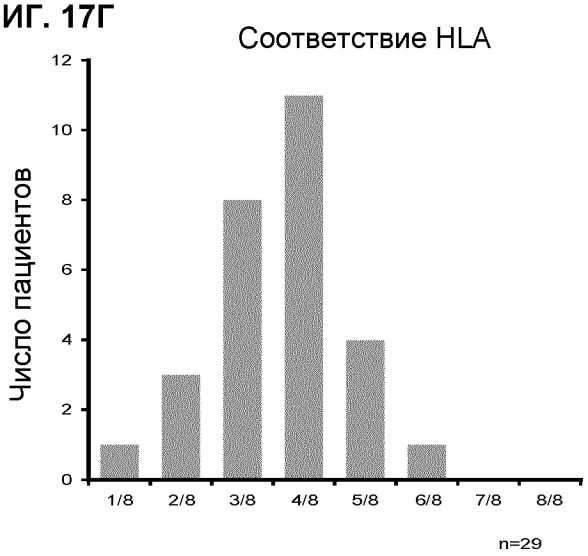
ФИГ. 17Б



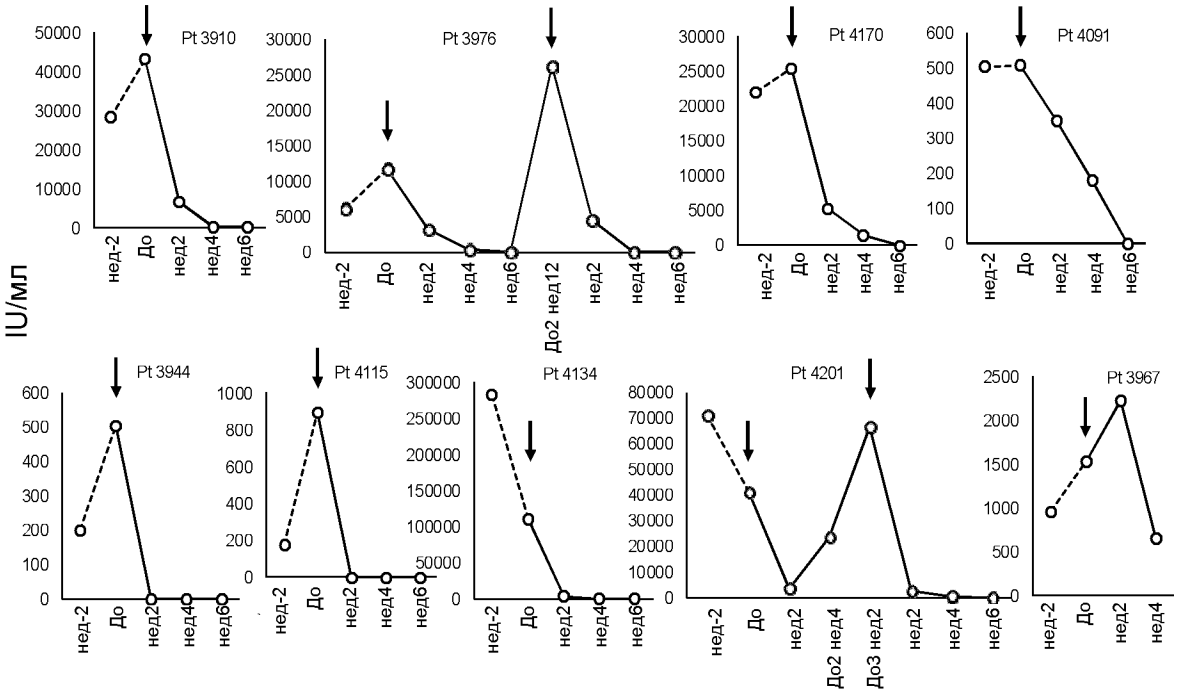
ФИГ. 17В



ФИГ. 17Г

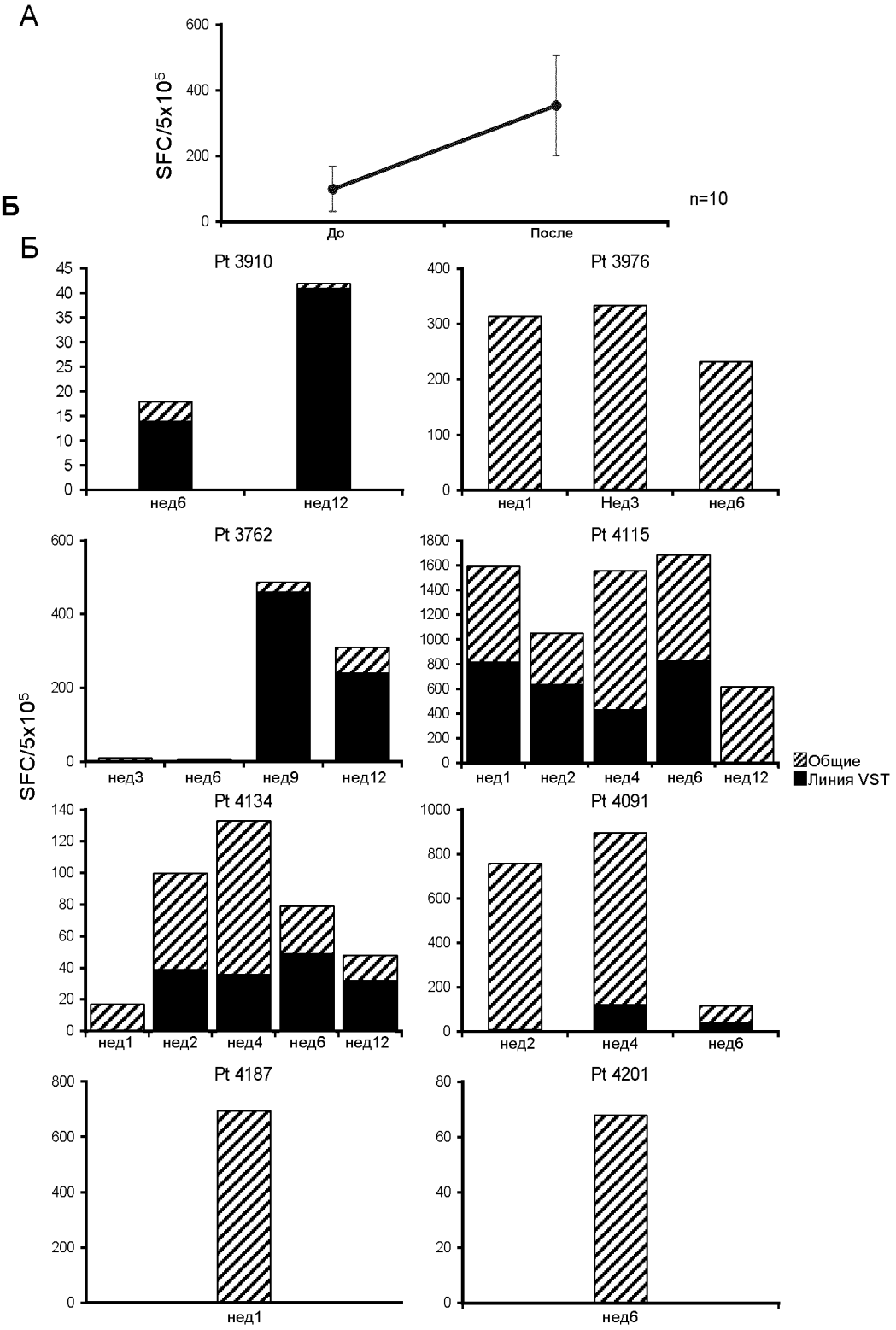


ФИГ. 18

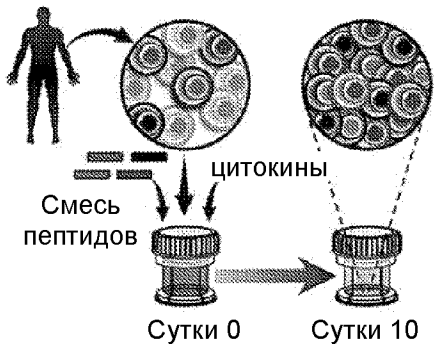

IU/мл
Pt 3910
Pt 3976
Pt 4170
Pt 4091
Pt 3944
Pt 4115
Pt 4134
Pt 4201
Pt 3967
нед-2
До
нед2
нед4
нед6
До2 нед12
До2 нед4
До3 нед2

ФИГ. 19А

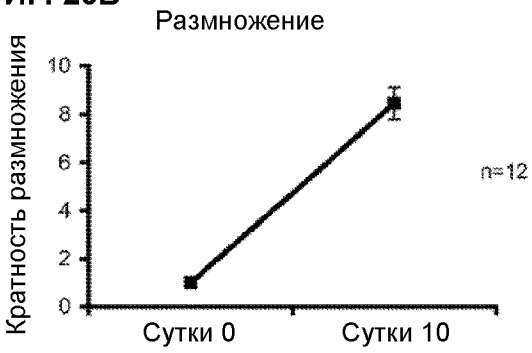
ФИГ. 19Б



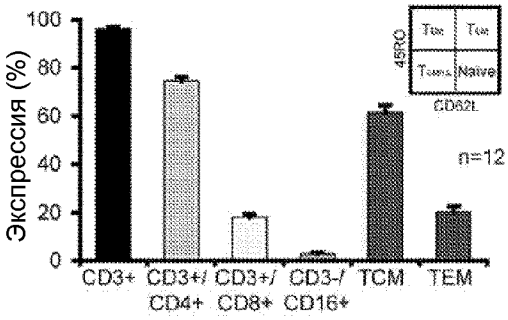
ФИГ. 20А



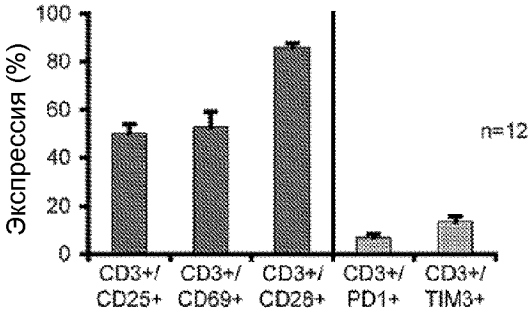
ФИГ. 20Б



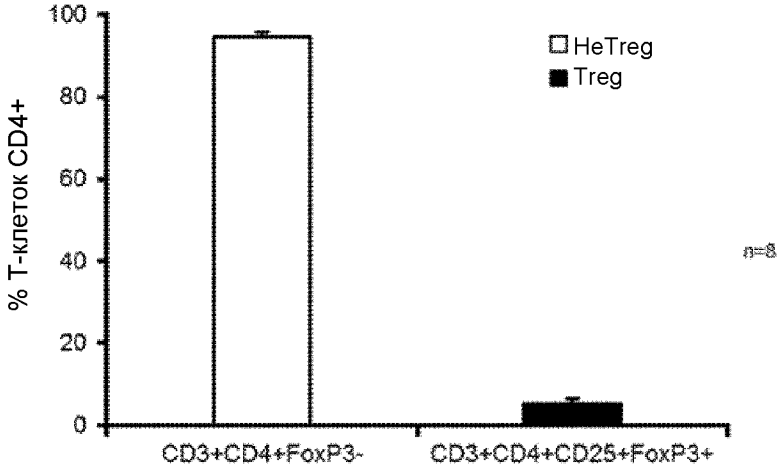
ФИГ. 20В



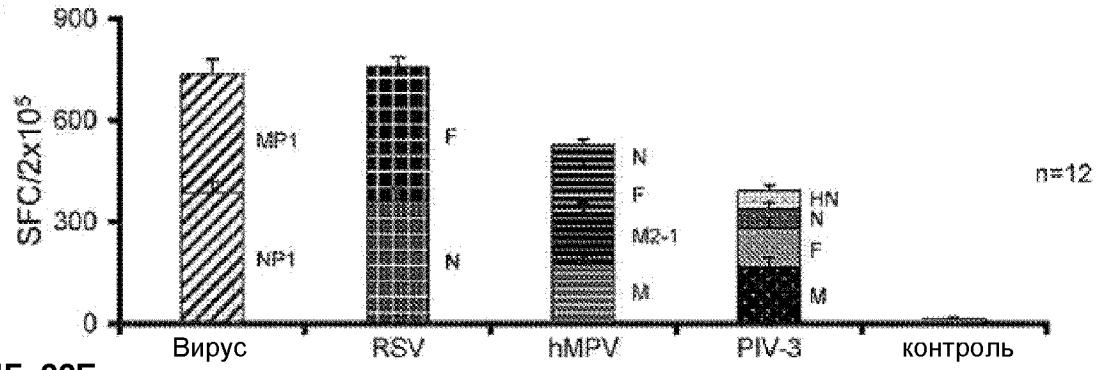
ФИГ. 20Г



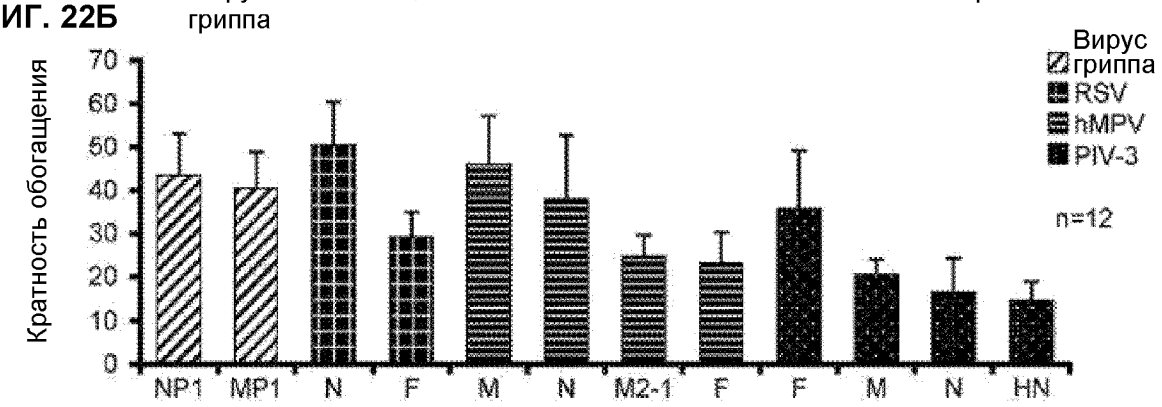
ФИГ. 21


100
80
60
40
20
0
% Т-клеток CD4+
HeTreg
Treg
n=8
CD3+CD4+FoxP3-
CD3+CD4+CD25+FoxP3+

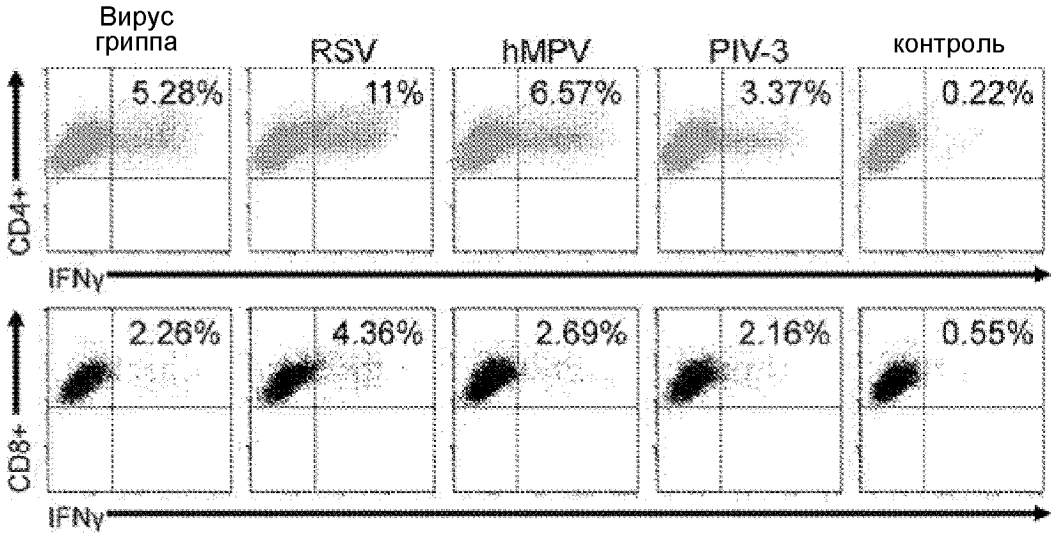
ФИГ. 22А



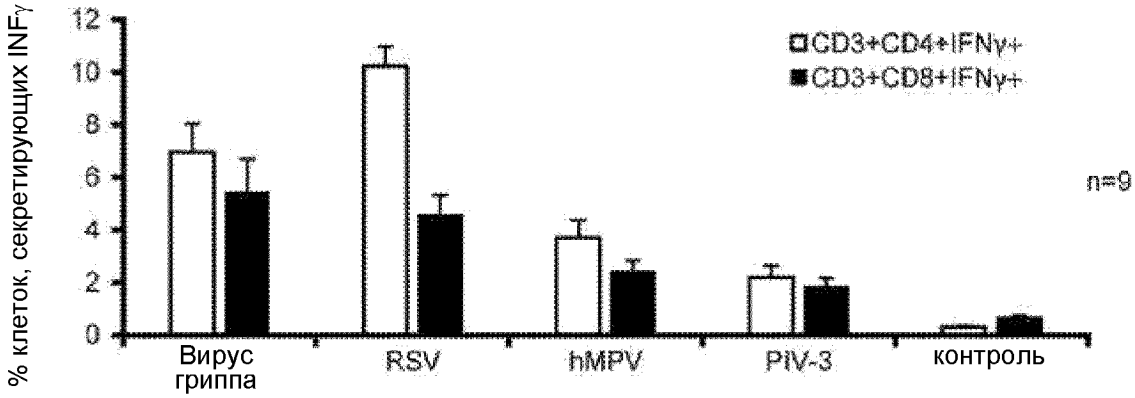
ФИГ. 22Б



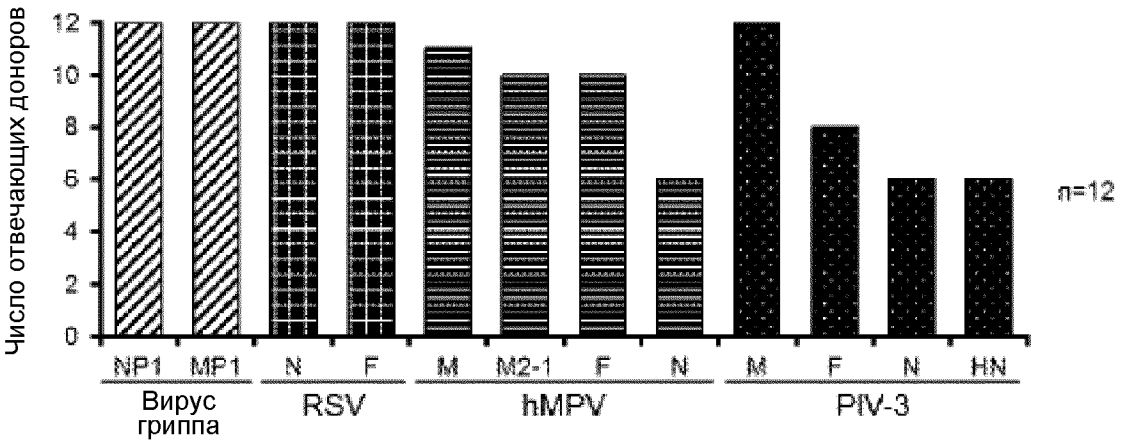
ФИГ. 22В



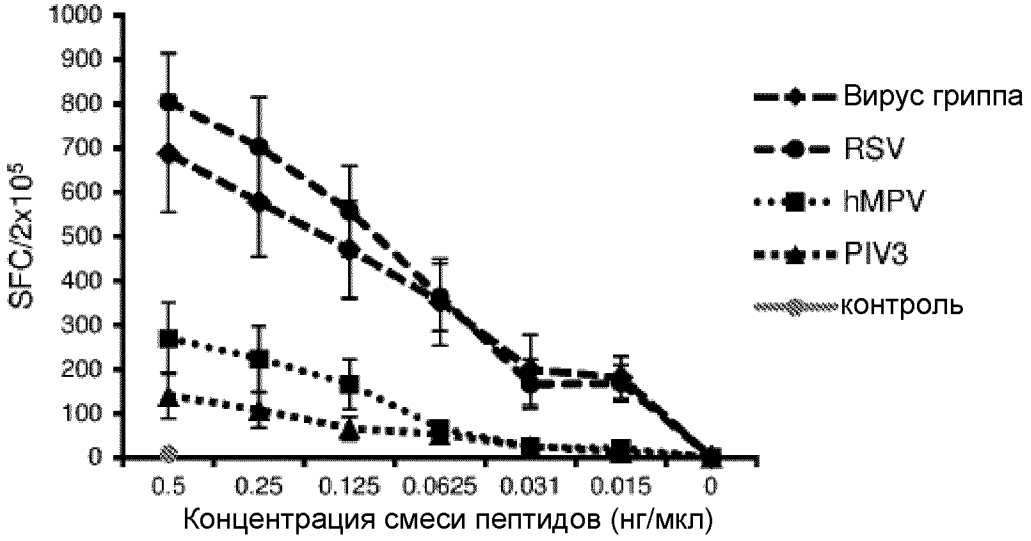
ФИГ. 22Г



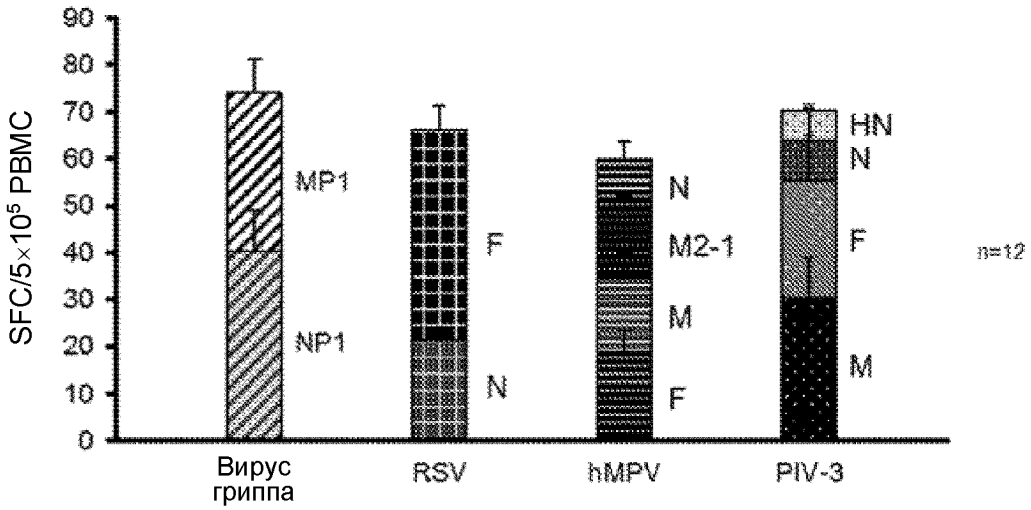
ФИГ. 23


Число отвечающих доноров
12
10
8
6
4
2
0
n=12
NP1
MP1
N
F
M
M2-1
F
N
M
F
N
HN
Вирус гриппа
RSV
hMPV
PIV-3

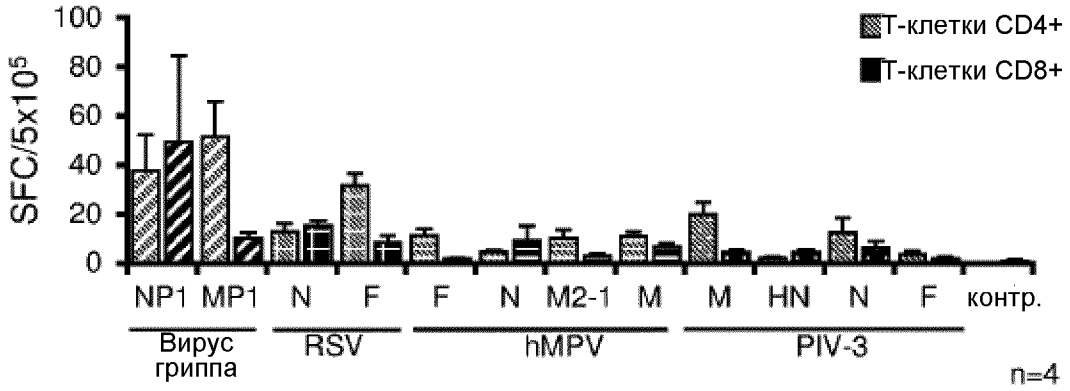
ФИГ. 24


1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
SFC/2x10^5
0.5
0.25
0.125
0.0625
0.031
0.015
0
Концентрация смеси пептидов (нг/мкл)
Вирус гриппа
RSV
hMPV
PIV3
контроль

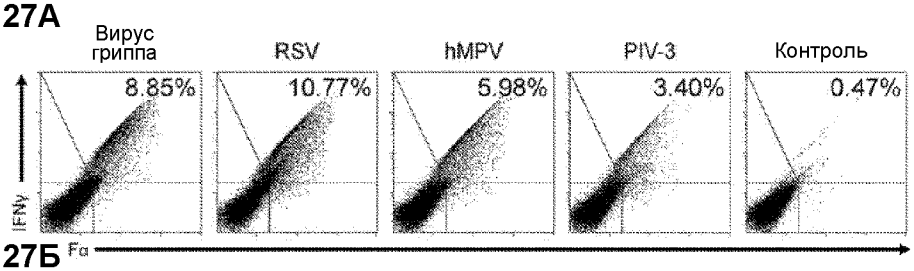
ФИГ. 25


SFC/5×10⁵ PBMC
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
MP1
NP1
F
N
N
M2-1
M
F
HN
N
F
M
n=12
Вирус гриппа
RSV
hMPV
PIV-3

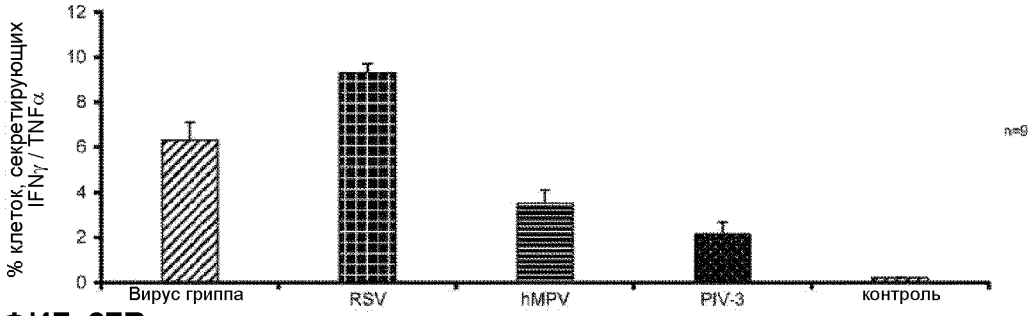
ФИГ. 26


SFC/5x10^5
100
80
60
40
20
0
Т-клетки CD4+
Т-клетки CD8+
NP1
MP1
N
F
F
N
M2-1
M
M
HN
N
F
контр.
Вирус гриппа
RSV
hMPV
PIV-3
n=4

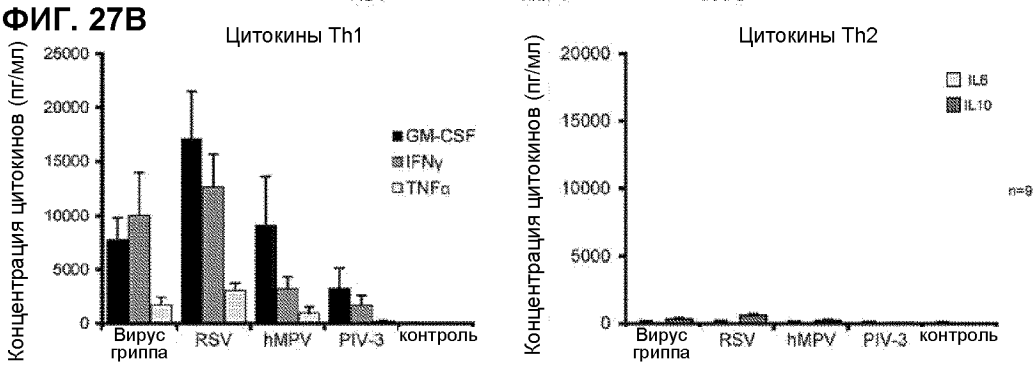
ФИГ. 27А



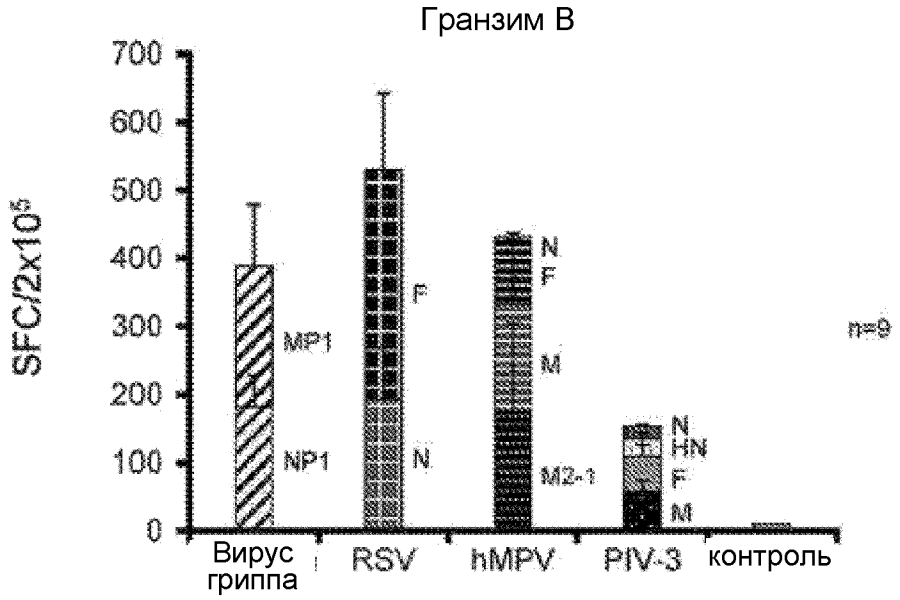
ФИГ. 27Б



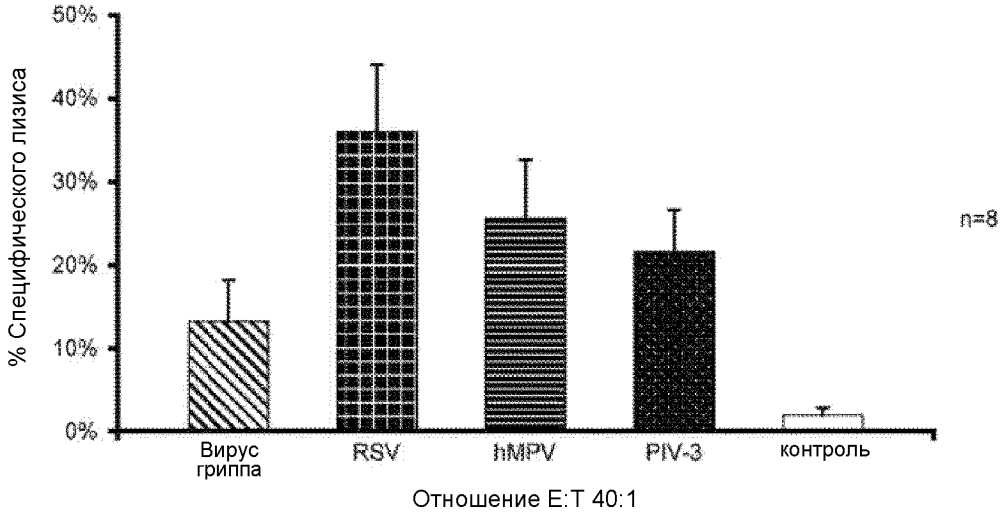
ФИГ. 27В



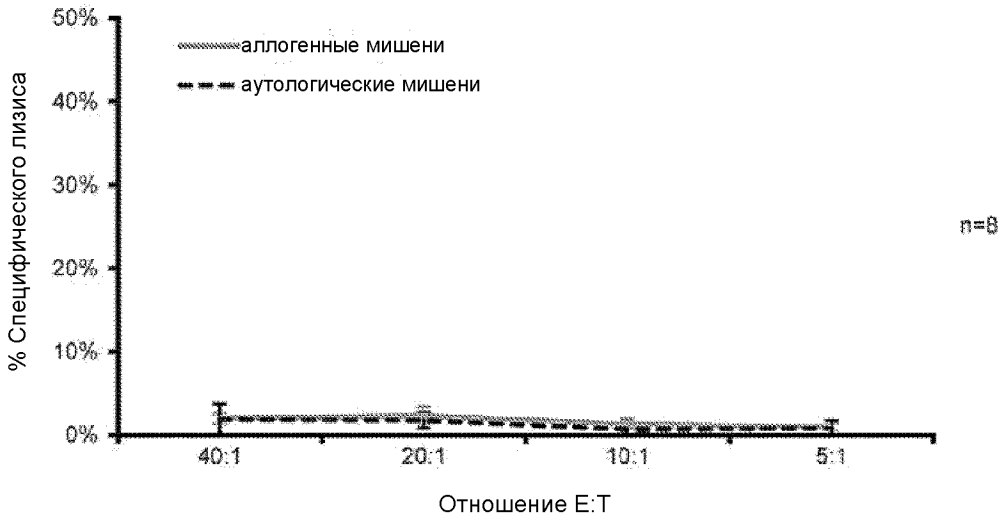
ФИГ. 27Г


Гранзим B
SFC/2x10^5
700
600
500
400
300
200
100
0
MP1
NP1
F
N
N
F
M
M2-1
N
HN
F
M
n=9
Вирус гриппа
RSV
hMPV
PIV-3
контроль

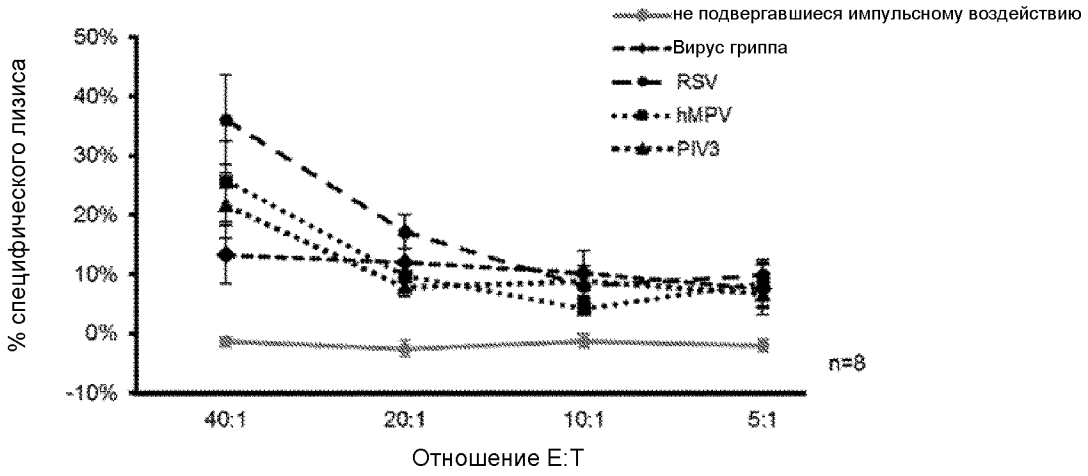
ФИГ. 28А



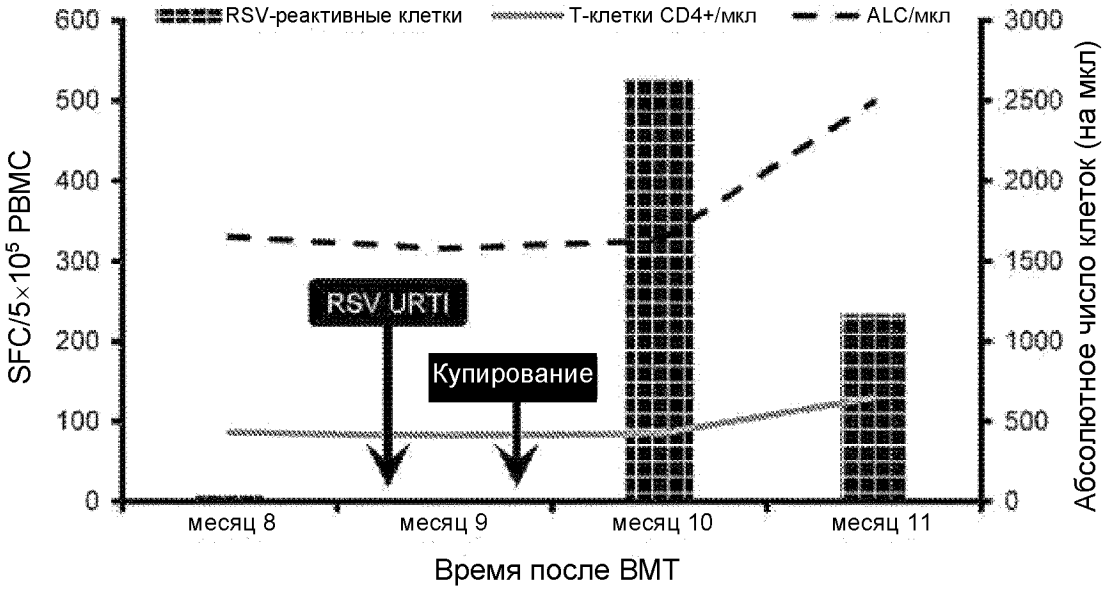
ФИГ. 28Б



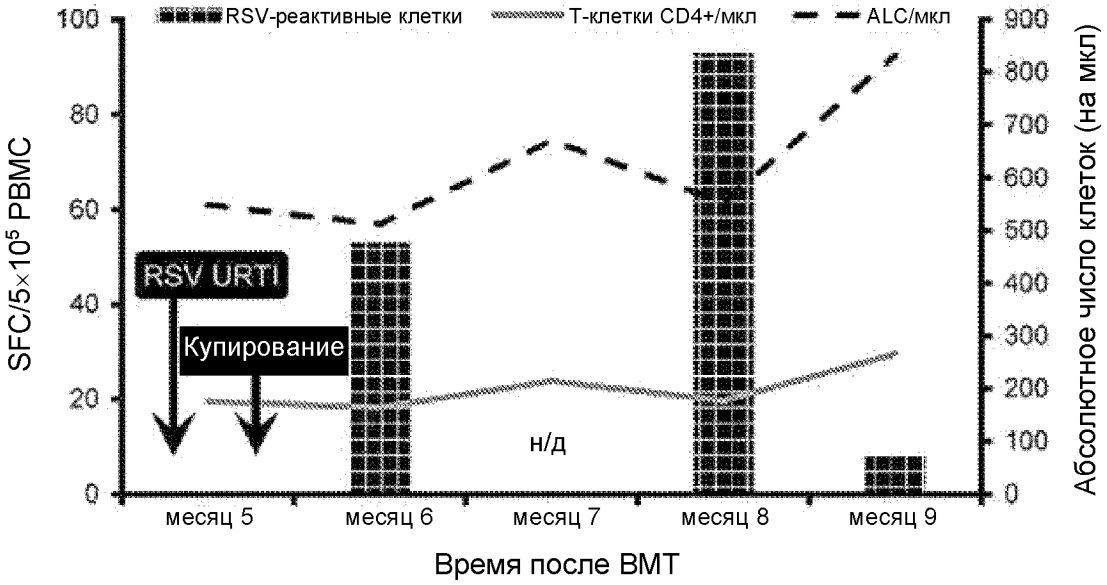
ФИГ. 29


не подвергавшиеся импульсному воздействию
Вирус гриппа
RSV
hMPV
PIV3
% специфического лизиса
50%
40%
30%
20%
10%
0%
-10%
n=8
40:1
20:1
10:1
5:1
Отношение E:T

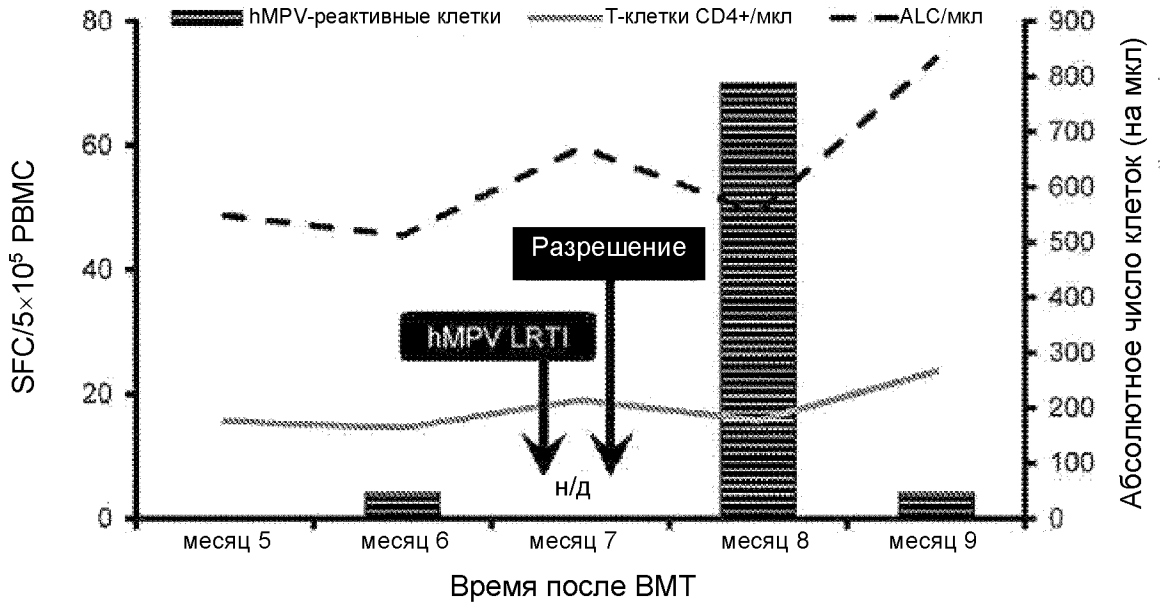
ФИГ. 30А



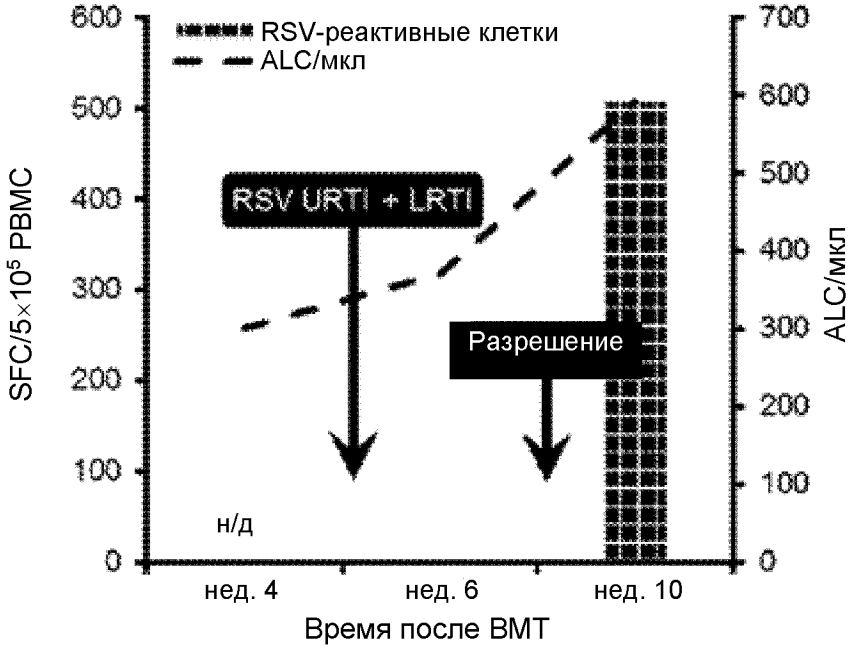
ФИГ. 30Б



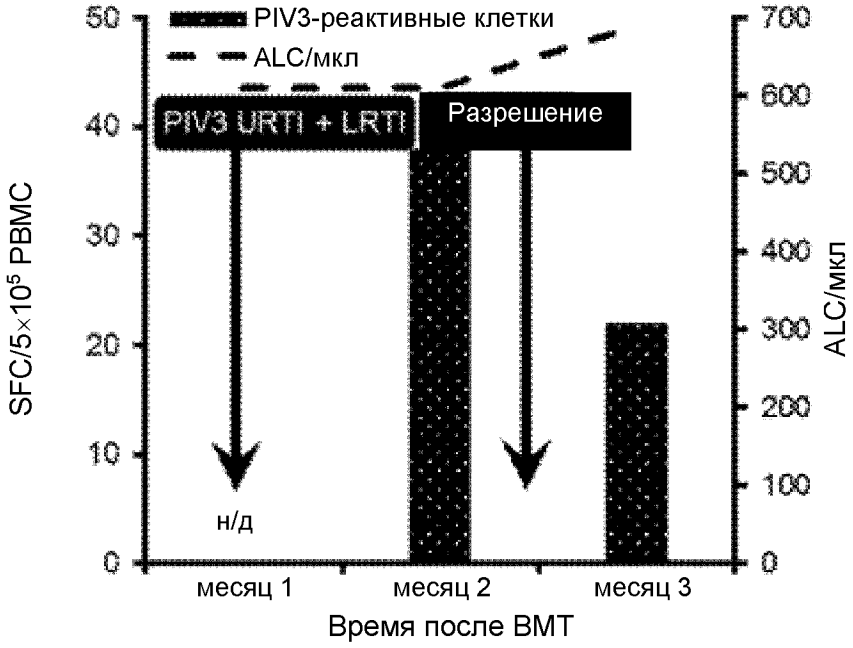
ФИГ. 30B


hMPV-реактивные клетки
Т-клетки CD4+/мкл
ALC/мкл
SFC/5×10⁵ PBMC
Абсолютное число клеток (на мкл)
Разрешение
hMPV LRTI
н/д
месяц 5
месяц 6
месяц 7
месяц 8
месяц 9
Время после BMT

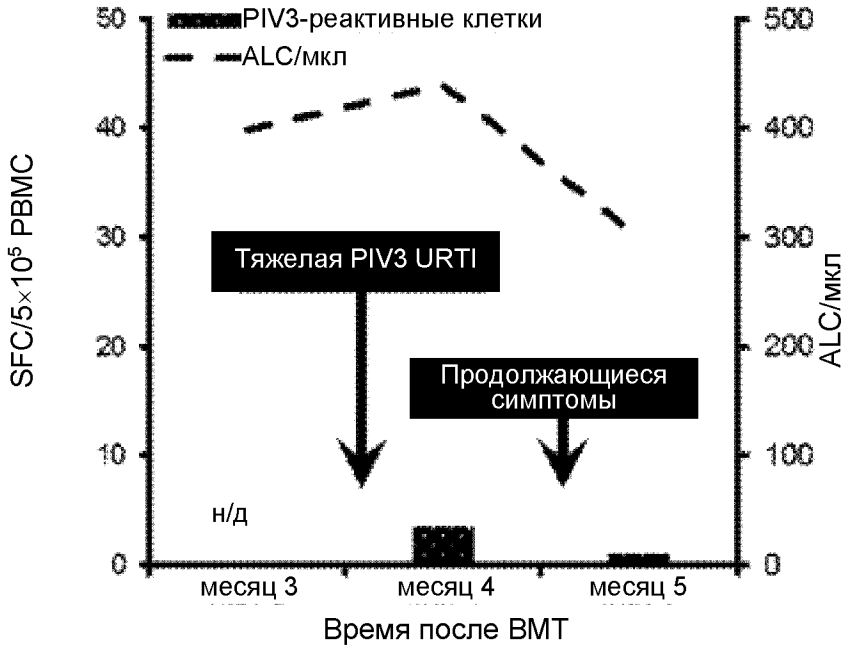
ФИГ. 31А



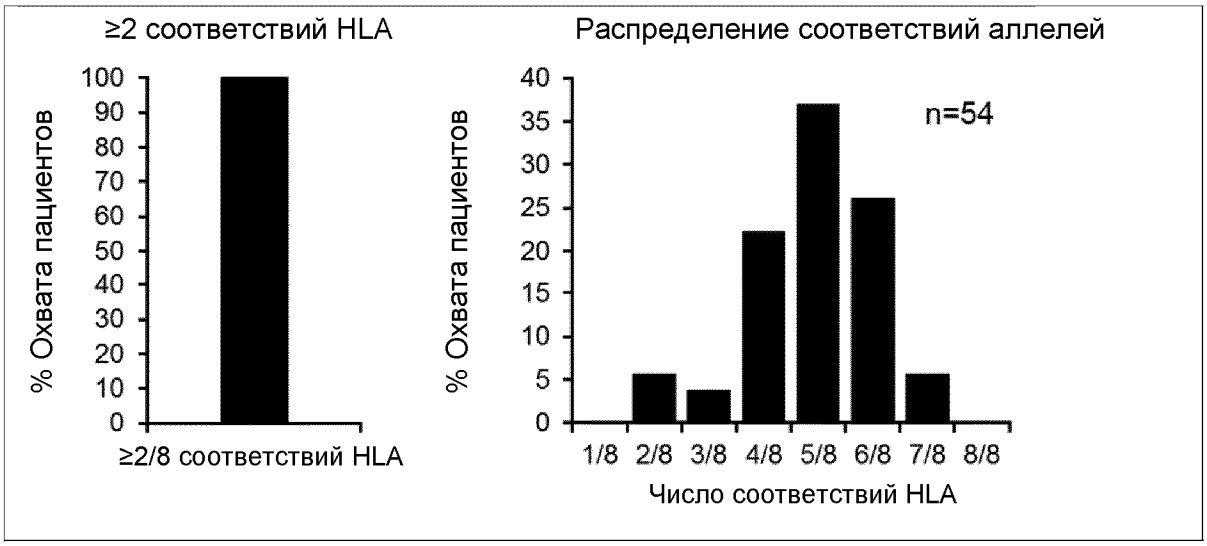
ФИГ. 31Б



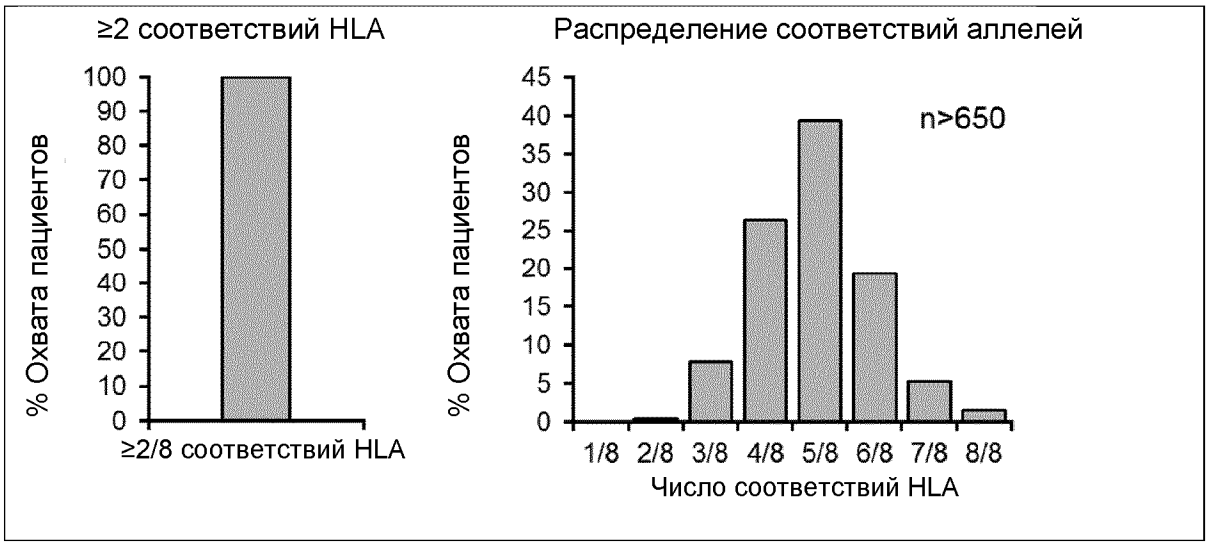
ФИГ. 31B


PIV3-реактивные клетки
ALC/мкл
SFC/5×10⁵ PBMC
ALC/мкл
50
40
30
20
10
0
500
400
300
200
100
0
Тяжелая PIV3 URTI
Продолжающиеся симптомы
н/д
месяц 3
месяц 4
месяц 5
Время после BMT

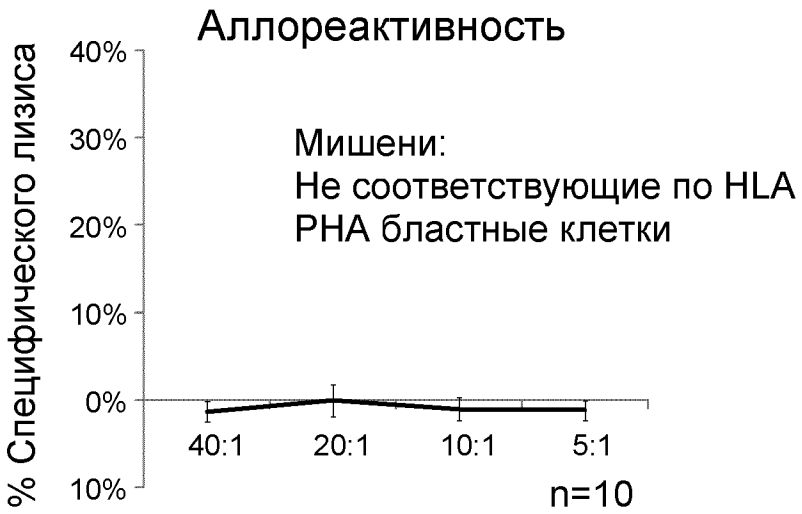
ФИГ. 32


≥2 соответствий HLA
% Охвата пациентов
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
≥2/8 соответствий HLA
Распределение соответствий аллелей
% Охвата пациентов
40
35
30
25
20
15
10
5
0
n=54
1/8 2/8 3/8 4/8 5/8 6/8 7/8 8/8
Число соответствий HLA

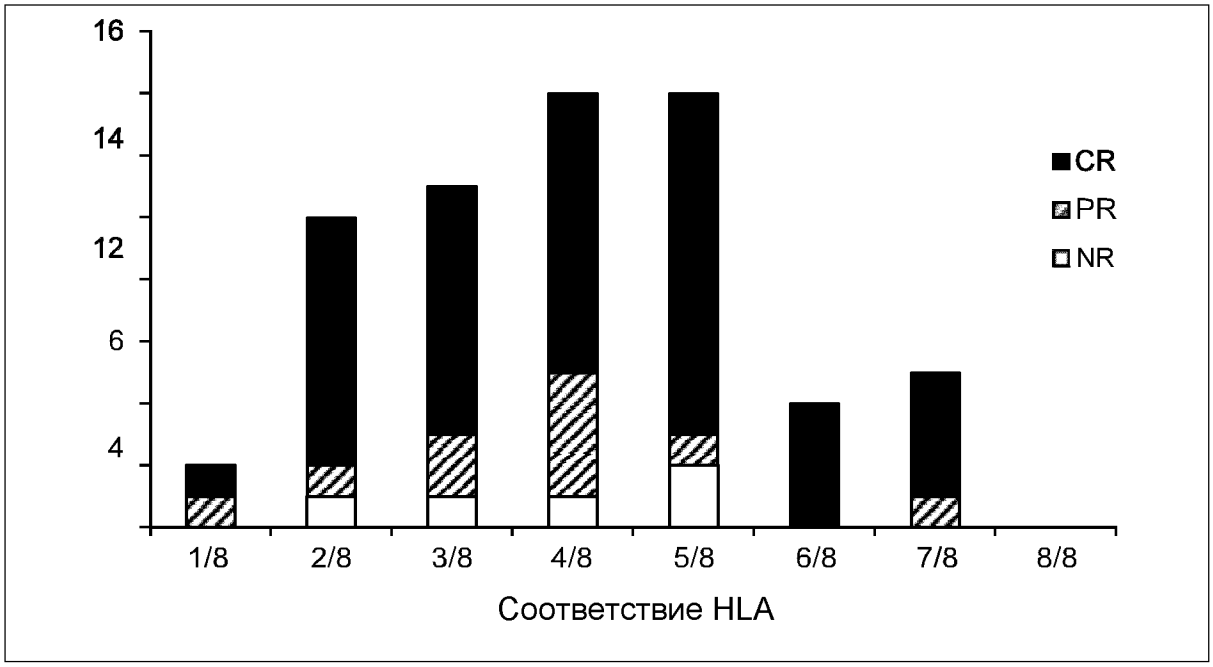
ФИГ. 33


≥2 соответствий HLA
% Охвата пациентов
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
≥2/8 соответствий HLA
Распределение соответствий аллелей
% Охвата пациентов
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
n>650
1/8 2/8 3/8 4/8 5/8 6/8 7/8 8/8
Число соответствий HLA

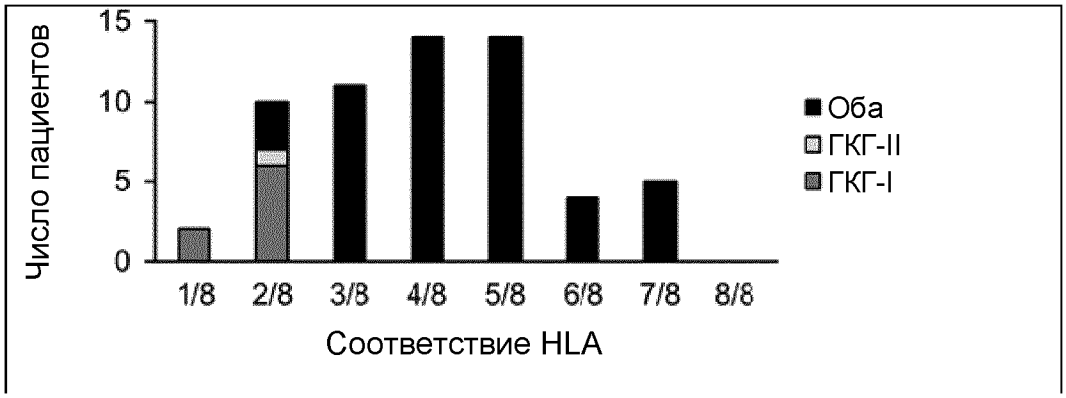
ФИГ. 34


Аллореактивность
% Специфического лизиса
40%
30%
20%
10%
0%
10%
Мишени:
Не соответствующие по HLA
PHA бластные клетки
40:1
20:1
10:1
5:1
n=10

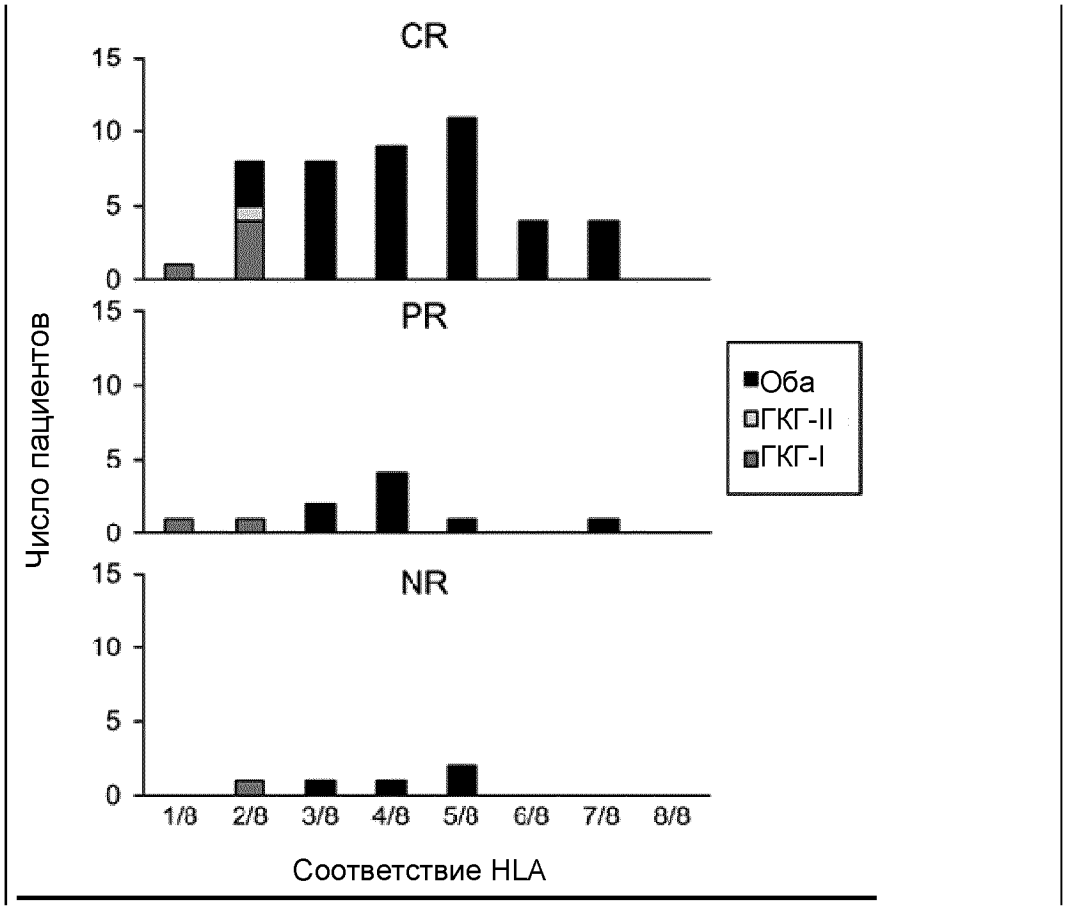
ФИГ. 35



ФИГ. 36


Число пациентов
15
10
5
0
1/8
2/8
3/8
4/8
5/8
6/8
7/8
8/8
Соответствие HLA
Оба
ГКГ-II
ГКГ-I

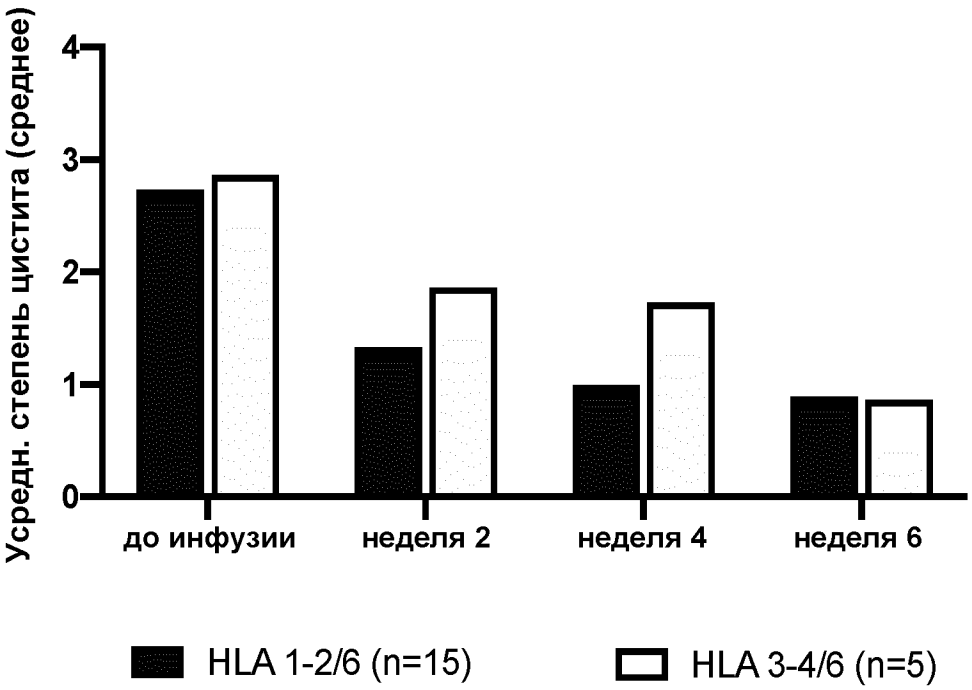
ФИГ. 37


CR
PR
NR
15
10
5
0
Число пациентов
Оба
ГКГ-II
ГКГ-I
1/8
2/8
3/8
4/8
5/8
6/8
7/8
8/8
Соответствие HLA

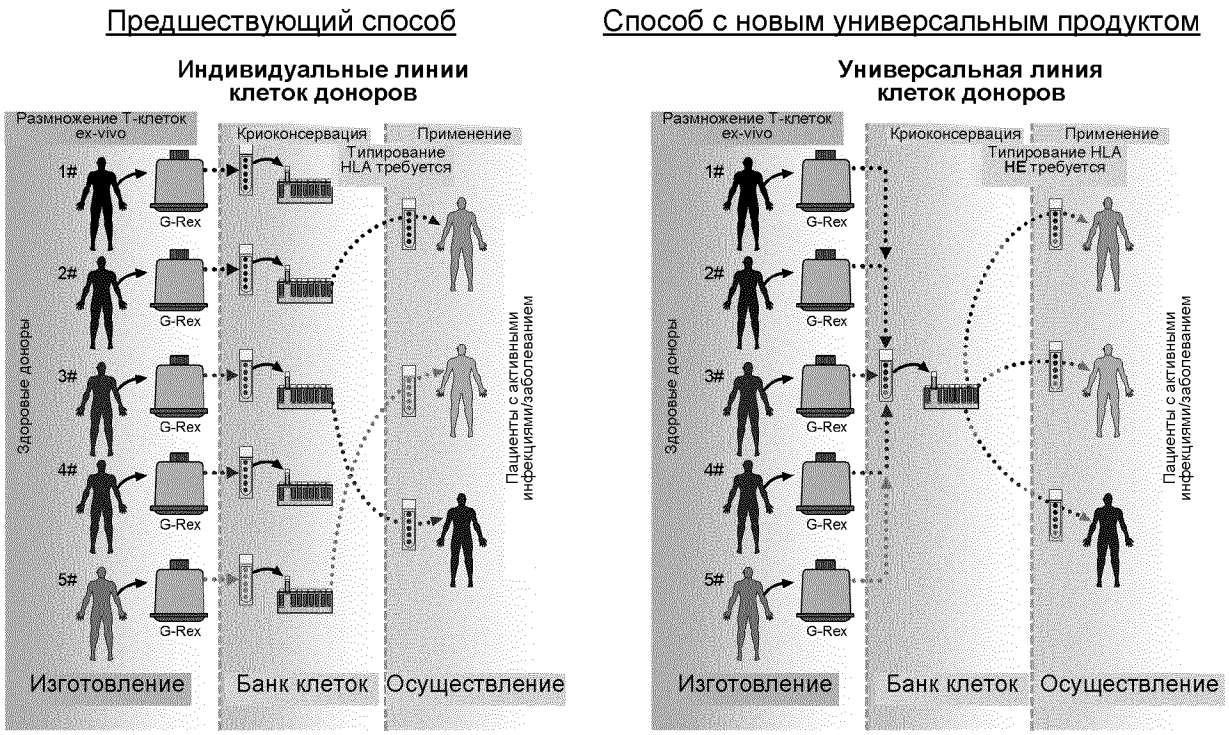
ФИГ. 38

100
80
60
40
20
0
% Разрешения*
неделя 2
неделя 4
неделя 6
Естественная история (n=33)
Viralym-M (n=20)

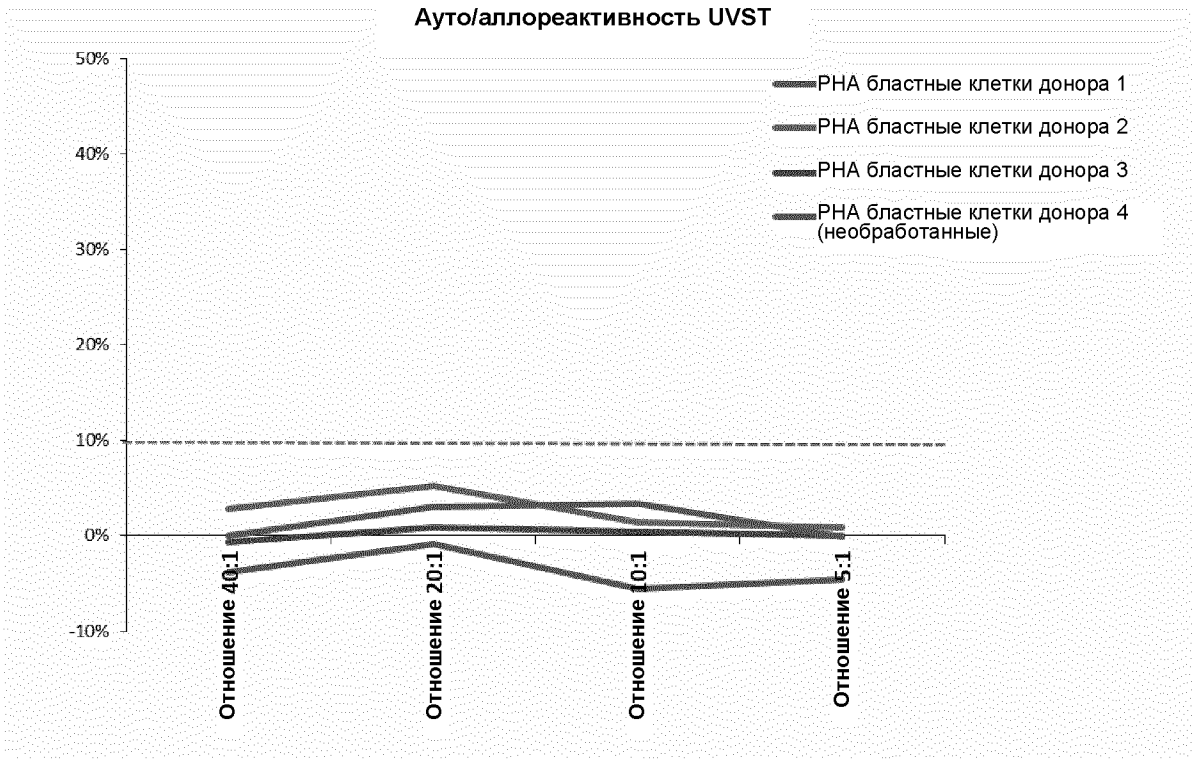
ФИГ. 39


Усредн. степень цистита (среднее)
4
3
2
1
0
до инфузии
неделя 2
неделя 4
неделя 6
HLA 1-2/6 (n=15)
HLA 3-4/6 (n=5)

ФИГ. 40


Предшествующий способ
Индивидуальные линии клеток доноров
Размножение Т-клеток ex-vivo
Криоконсервация
Применение
Типирование HLA требуется
1#
2#
3#
4#
5#
G-Rex
Здоровые доноры
Пациенты с активными инфекциями/заболеванием
Изготовление
Банк клеток
Осуществление
Способ с новым универсальным продуктом
Универсальная линия клеток доноров
Размножение Т-клеток ex-vivo
Криоконсервация
Применение
Типирование HLA НЕ требуется
1#
2#
3#
4#
5#
G-Rex
Здоровые доноры
Пациенты с активными инфекциями/заболеванием
Изготовление
Банк клеток
Осуществление

ФИГ. 41


Ауто/аллореактивность UVST
50%
40%
30%
20%
10%
0%
-10%
PHA бластные клетки донора 1
PHA бластные клетки донора 2
PHA бластные клетки донора 3
PHA бластные клетки донора 4 (необработанные)
Отношение 40:1
Отношение 20:1
Отношение 10:1
Отношение 5:1