

R U 2 7 1 7 9 8 4 C 2

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11)

2 717 984⁽¹³⁾ C2

(51) МПК
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 35/17 (2015.01)
C07K 19/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/17 (2020.01); A61K 39/0011 (2020.01); C07K 14/7051 (2020.01); C07K 14/70589 (2020.01); C12N 5/0638 (2020.01); C12N 5/0646 (2020.01); C12Y 301/03048 (2020.01); A61K 2039/5158 (2020.01)

(21)(22) Заявка: 2016124280, 21.11.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.11.2014

Дата регистрации:
27.03.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
21.11.2013 GB 1320573.7;
19.06.2014 GB 1410934.2

(43) Дата публикации заявки: 26.12.2017 Бюл. № 36

(45) Опубликовано: 27.03.2020 Бюл. № 9

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 21.06.2016

(86) Заявка РСТ:
GB 2014/053452 (21.11.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/075469 (28.05.2015)

Адрес для переписки:
190900, Санкт-Петербург, BOX 1125, ООО
"ПАТЕНТИКА"

(54) КЛЕТКА

(57) Реферат:

Настоящая группа изобретений относится к иммунологии и клеточной биологии. Предложены цитотоксическая Т-клетка и клетка естественного киллера (NK-клетка), содержащие по два химерных антигенных рецептора (CAR), один из которых содержит эндодомен CD3ξ, активирующий клетку в присутствии первого антигена, а второй - домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45, ингибирующий клетку в отсутствии второго антигена. Такая система CAR позволяет клетке функционировать

(72) Автор(ы):

ПЮЛЕ Мартен (GB),
КОНГ Кхай (GB),
КОРДОБА Шон (GB)

(73) Патентообладатель(и):
ЮСиЭл БИЗНЕС ЛТД (GB)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2013/126726 A1, 29.08.2013.
CHICAYBAM L ET AL, "P60: A conditional system for the activation of lymphocytes expressing activating and inhibitory CARs", HUMAN GENE THERAPY, 2010, 21(10): 1418.
FEDOROV V. et al., "Inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) limit undesirable side effects of T-cell therapies", Experimental Hematology. 42nd (см. прод.)

R U 2 7 1 7 9 8 4 C 2

по принципу логического оператора "И", т.е. клетка активируется только в присутствии и первого, и второго антигенов. Дополнительно представлены: нуклеиновая кислота и наборы нуклеиновых кислот, кодирующих упомянутые CAR; вектор и способ получения цитотоксической Т-клетки; а также фармацевтическая композиция и способ лечения и/или предотвращения заболевания путем уничтожения опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген; применение

R U 2 7 1 7 9 8 4 C 2

фармацевтической композиции и Т-клетки при изготовлении лекарственного средства и для

лечения и/или предотвращения заболевания. 13 н. и 14 з.п. ф-лы, 31 ил., 6 табл., 14 пр.

(56) (продолжение):

Annual Scientific Meeting of the ISEH - Society for Hematology and Stem Cells, August 2013, 41(8): S75. CORDOBA S.P. et al., "The large ectodomains of CD45 and CD148 regulate their segregation from and inhibition of ligated T-cell receptor", Blood, May 2013, 121(21):4295-4302. CHEN L, FLIES D.B. "Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition", Nat. Rev. Immunol., Apr 2013, 13(4):227-42.

R U 2 7 1 7 9 8 4 C 2

R U 2 7 1 7 9 8 4 C 2

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) RU (11) 2 717 984⁽¹³⁾ C2

(51) Int. Cl.
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 35/17 (2015.01)
C07K 19/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 35/17 (2020.01); *A61K 39/0011* (2020.01); *C07K 14/7051* (2020.01); *C07K 14/70589* (2020.01); *C12N 5/0638* (2020.01); *C12N 5/0646* (2020.01); *C12Y 301/03048* (2020.01); *A61K 2039/5158* (2020.01)

(21)(22) Application: 2016124280, 21.11.2014

(24) Effective date for property rights:
21.11.2014

Registration date:
27.03.2020

Priority:

(30) Convention priority:
21.11.2013 GB 1320573.7;
19.06.2014 GB 1410934.2

(43) Application published: 26.12.2017 Bull. № 36

(45) Date of publication: 27.03.2020 Bull. № 9

(85) Commencement of national phase: 21.06.2016

(86) PCT application:
GB 2014/053452 (21.11.2014)

(87) PCT publication:
WO 2015/075469 (28.05.2015)

Mail address:
190900, Sankt-Peterburg, BOX 1125, OOO
"PATENTIKA"

(54) CELL

(57) Abstract:

FIELD: immunology; cell biology.

SUBSTANCE: there are presented cytotoxic T-cell and natural killer cell (NK-cell) containing two chimeric antigenic receptors (CAR), one of which contains CD3ζ endodomain activating the cell in the presence of the first antigen, and the second one—tyrosine phosphatase CD148 or CD45 domain, which inhibits cell in the absence of a second antigen. Such a CAR system allows the cell to function according to the logical "AND" principle, i.e. the cell is activated only in the presence of both the first and second antigens. Additionally presented are: nucleic acid and sets of nucleic acids

(72) Inventor(s):

PYULE Marten (GB),
KONG Kkhaj (GB),
KORDOBA Shon (GB)

(73) Proprietor(s):

YUSIEL BIZNES LTD (GB)

R U 2 7 1 7 9 8 4 C 2

coding said CAR; vector and method of producing cytotoxic T-cell; as well as a pharmaceutical composition and a method of treating and/or preventing the disease by killing target tumor cells expressing a first antigen and a second antigen; use of the pharmaceutical composition and T-cell when preparing the medicinal agent and for treating and/or preventing the disease.

EFFECT: as result, T-cell and methods of its use for treating and/or preventing the disease are provided.

27 cl, 31 dwg, 6 tbl, 14 ex

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к клетке, которая содержит больше чем один химерных антигенный рецептор (CAR). Клетка может быть способна специфично распознавать клетку-мишень благодаря отличительному паттерну экспрессии (или неэкспрессии) двух или более антигенов клеткой-мишенью.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описано множество иммунотерапевтических средств для использования в лечении злокачественных опухолей, в том числе терапевтические моноклональные антитела (mAb), иммуноконъюгированные mAb, радиоконъюгированные mAb и биспецифичные средства, вовлекающие Т-клетки (Bi-specific T-cell Engager[®]).

Типично эти иммунотерапевтические средства направлены на один антиген: например, ритуксимаб направлен на CD20; миелотарг направлен на CD33; и алемтузумаб направлен на CD52.

Однако, относительно редко присутствия (или отсутствия) одного антигена достаточно для того, чтобы описать злокачественную опухоль, что может вести к недостатку специфичности.

Большинство злокачественных опухолей нельзя дифференцировать от нормальных тканей на основании одного антигена. Таким образом, при терапии возникает существенная токсичность «в мишени вне опухоли», посредством которой происходит повреждение нормальных тканей. Например, в то время, как направленно воздействуют на CD20 для того, чтобы лечить В-клеточные лимфомы ритуксимабом, происходит истощение компартмента нормальных В-клеток, в то время, как направленно воздействуют на CD52 для того, чтобы лечить хронический лиммоцитарный лейкоз, происходит истощение всего лимфоидного компартмента, в то время, как направленно воздействуют на CD33 для того, чтобы лечить острый миелолейкоз, происходит повреждение всего миелоидного компартмента, и т.д.

Предсказанная проблема токсичности «в мишени вне опухоли» обнаружена в клинических исследованиях. Например, подход, в котором направленно воздействуют на ERBB2, вызвал смерть у пациента со злокачественной опухолью ободочной кишки, метастазировавшей в легкие и печень. У некоторых пациентов со злокачественной опухолью ободочной кишки повышена экспрессия ERBB2, но также он экспрессирован в некоторых нормальных тканях, включая сердце и нормальное сосудистое русло.

Для некоторых злокачественных опухолей направленное воздействие на присутствие двух антигенов злокачественной опухоли может быть более избирательным и, следовательно, эффективным, чем направленное воздействие на один. Например, хронический В-лиммоцитарный лейкоз (B-CLL) представляет собой обычновенный лейкоз, который в настоящее время лечат посредством направленного воздействия на CD19. Это лечит лимфому, но также истощает весь компартмент В-клеток, так что лечение имеет существенный токсический эффект. B-CLL имеет необычный фенотип в том отношении, что совместно экспрессируются CD5 и CD19. Посредством направленного воздействия только на клетки, которые экспрессируют CD5 и CD19, будет возможно значительно снижать токсичность в мишени вне опухоли.

Таким образом, существует потребность в иммунотерапевтических средствах, которые способны к дополнительному направленному воздействию, чтобы отражать комплексный паттерн экспрессии маркеров, который связан со многими злокачественными опухолями.

Химерные антигенные рецепторы (CAR)

Химерные антигенные рецепторы представляют собой белки, которые прививают

специфичность моноклонального антитела (mAb) эфекторной функции Т-клетки. Их обычная форма относится к белку с трансмембранным доменом I типа с антигенраспознающим амино-концом, спейсером, трансмембранным доменом, все соединены в составной эндодомен, который передает сигналы выживаемости и активации

5 Т-клеток (см. фиг. 1А).

Наиболее распространенной формой этих молекул являются слитные конструкции из одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFv), полученных из моноклональных антител, распознающих антиген-мишень, которые слиты через спейсер и трансмембранный домен с сигнальным эндодоменом. Такие молекулы вызывают

10 активацию Т-клетки в ответ на распознавание с помощью scFv его мишени. Когда Т-клетки экспрессируют такой CAR, они распознают и уничтожают клетки-мишени, которые экспрессируют антиген-мишень. Разработано несколько CAR против опухоль-ассоциированных антигенов, и в настоящее время клинические исследования проходят подходы адоптивного переноса с использованием таких CAR-экспрессирующих Т-

15 клеток для лечения различных злокачественных опухолей.

Однако использование CAR-экспрессирующих Т-клеток также связано с токсичностью в мишени вне опухоли. Например, основанный на CAR подход, направленно воздействующий на карбоксиангидразу-IX (CAIX) для того, чтобы лечить почечноклеточную карциному, приводил к печеночной токсичности, которая

20 предположительно обусловлена специфичной атакой на эпителиальные клетки желчного протока (Lamers et al (2013) Mol. Ther. 21:904-912.

Подходы двойного направленного воздействия с использованием CAR

Для того чтобы решить проблему токсичности «в мишени вне опухоли», разработаны CAR Т-клетки с двойной антигенной специфичностью. В подходе «двойного

25 направленного воздействия», два комплементарных CAR совместно экспрессируют в одной и той же популяции Т-клеток, каждый направлен на отделенную опухоловую мишень и сконструирован для того, чтобы предоставлять комплементарные сигналы.

Wlikie et al (2012 J Clin Immunol 32:1059-1070) описывают подход двойного направленного воздействия, в котором совместно экспрессируют ErbB2- и MUC1-специфичные CAR. ErbB2-специфичный CAR предоставлял только CD3ξ сигнал и MUC1-специфичный CAR предоставлял только CD28 костимуляторный сигнал. Обнаружено, что комплементарная передача сигналов возникала в присутствии обоих антигенов, что приводило к продукции IL-2. Однако продукция IL-2 была умеренной по сравнению с контрольными Т-клетками со сконструированными CAR, в которых передачу сигналов обеспечивает слитный CD28+CD3ξ эндодомен.

Схожий подход описан у Kloss et al (2013 Nature Biotechnol. 31:71-75), в котором использовали CD-19-специфичный CAR, который предоставляет CD3ξ-опосредованный активационный сигнал в комбинации с химерным костимуляторным рецептором, специфичным к PSMA. С использованием этой конструкции «совместных CAR» CAR Т-клетка получает активационный, сигнал когда она встречает клетку-мишень с одним антигеном, и костимуляторный сигнал, когда она встречает клетку-мишень с другим антигеном, и получает и активирующий и костимуляторный сигналы только когда встречает клетки-мишени, несущие оба антигена.

Это является ранней попыткой ограничения CAR активности только клеткой-мишенью, несущей два антигена. Однако этот подход ограничен: несмотря на то, что активность CAR Т-клетки будет наибольшей в отношении мишней, экспрессирующих оба антигена, CAR Т-клетка все же будет уничтожать мишени, экспрессирующие только антиген, распознаваемый с помощью активирующего CAR; кроме того, костимуляция

ведет к пролонгированным эффектам, оказываемым на Т-клетки, которые делятся после ухода клетки-мишени. Таким образом, активность против положительных по одному антигену Т-клеток, равная активности против двойных положительных, может быть возможна, например, в ситуации, когда одинарные положительные ткани находятся

5 смежно с двойной положительной опухолью или на миграционном пути от нее.

Таким образом, существует потребность в усовершенствованных терапевтических подходах на основе CAR со сниженной токсичностью в мишени вне опухоли, где активация Т-клеток полностью ограничена клетками-мишениями, которые экспрессируют оба антигена.

10 ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фиг. 1: (а) обобщенная архитектура CAR: связывающий домен распознает антиген; спайсер поднимает связывающий домен с клеточной поверхности; трансмембранный домен за jakiраивает белок в мембране и эндодомен передает сигналы. С (б) до (д): различные поколения и перестановки эндодоменов CAR: (б) начальные конструкции передавали ITAM сигналы только через эндодомен FcεR1-γ или CD3ξ, тогда как более поздние конструкции передавали дополнительный (с) один или (д) два костимуляторных сигнала в цис.

Фиг. 2: схематическое изображение, которое иллюстрирует изобретение

Изобретение относится к конструированию Т-клеток, чтобы реагировать на

20 логические правила антигенной экспрессии клетки-мишени. Это лучше всего проиллюстрировано с помощью воображаемой диаграммы рассеяния при FACS. Популяции клеток-мишней экспрессируют оба, любой один или ни одного из антигенов «А» и «В». Различные популяции-мишени (помечены красным) подвержены 25 уничтожению Т-клетками, трансдуцированными парой CAR, соединенных с помощью различных логических элементов. При использовании рецепторов с логическим элементом ИЛИ будут уничтожены как одинарные положительные, так и двойные положительные клетки. При использовании рецепторов с логическим элементом И погибают только двойные положительные клетки-мишени. При использовании логического элемента И НЕ двойные положительные мишени сохранены, тогда как 30 одинарные положительные мишени

Фиг. 3: создание популяций клеток-мишней

Клетки SupT1 использовали в качестве клеток-мишней. Эти клетки трансдуцировали для того, чтобы экспрессировать любое из CD19 и CD33 или оба CD19 и CD33. Клетки-мишени окрашивали подходящими антителами и анализировали с помощью проточной 35 цитометрии.

Фиг. 4: конструкция кассеты для логического элемента ИЛИ

Одна открытая рамка считывания обеспечивает оба CAR с последовательностью FMD-2A с сохранением рамки, что ведет к двум белкам. Сигнал1 представляет собой сигнальный пептид, полученный из IgG1 (но может представлять собой любой 40 эффективный сигнальный пептид). scFv1 представляет собой одноцепочечный вариабельный сегмент, который распознает CD19 (но может представлять собой scFv или пептидную петлю или лиганд или фактически любой домен, который распознает любую желаемую произвольную мишень). STK представляет собой «стебель» CD8, но может представлять собой любой подходящий внеклеточный домен. CD28tm 45 представляет собой трансмембранный домен CD28, но может представлять собой любой стабильный трансмембранный домен белка I типа и CD3Z представляет собой дзета-эндодомен CD3, но может представлять собой любой эндодомен, который содержит ITAM. Сигнал2 представляет собой сигнальный пептид, полученный из CD8,

но может представлять собой любой эффективный сигнальный пептид, который отличается по последовательности ДНК от сигнала1. scFv распознает CD33, но как и для scFv1, является произвольным. НС2CH3 представляет собой шарнир-CH2-CH3 из IgG1 человека, но может представлять собой любой внеклеточный домен, который не образует перекрестную пару со спейсером, используемым в первом CAR. CD28tm' и CD3Z' кодируют ту же белковую последовательность, что и CD28tm и CD3Z, но в них внесена неоднозначность кодонов для того, чтобы предотвращать гомологичную рекомбинацию.

Фиг. 5: схематическое представление химерных антигенных рецепторов (CAR) для

логического элемента ИЛИ

Конструировали стимулирующие CAR, содержащие любой из N-концевой A) scFV-домен против CD19, за которым следует внеклеточная шарнирная область CD8 человека или B) scFV-домен против CD33, за которым следует область внеклеточного шарнира, CH2 и CH3 (содержащая мутацию pva для того, чтобы снижать связывание FcR) из IgG1 человека. Оба рецептора содержат трансмембранный домен CD28 человека и внутриклеточный дзета-домен CD3 человека (CD247). «S» обозначает присутствие дисульфидных связей.

Фиг. 6: экспрессионные данные, показывающие коэкспрессию обоих CAR на поверхности одной Т-клетки.

Фиг. 7: функциональный анализ логического элемента ИЛИ

Эффекторные клетки (5×10^4 клеток), экспрессирующие конструкцию логического элемента ИЛИ, совместно инкубировали с различным числом клеток-мишеней и анализировали IL-2 после 16 часов с помощью ELISA. На графике представлен усредненная максимальная секреция IL-2 от химической стимуляции (РМА и иономицин) только эффекторных клеток и усредненный фоновый IL-2 от эффекторных клеток без какого-либо стимула из трех повторений.

Фиг. 8: схематическое представление, показывающее обе версии кассеты, используемой для экспрессии обоих логических элементов И

Активирующие и ингибирующие CAR совместно экспрессировали еще раз с использованием последовательности FMD-2A. Сигнал1 представляет собой сигнальный пептид, полученный из IgG1 (но может представлять собой любой эффективный сигнальный пептид). scFv1 представляет собой одноцепочечный вариабельный сегмент, который распознает CD19 (но может представлять собой scFv или пептидную петлю или лиганд или фактически любой домен, который распознает какую-либо желаемую произвольную мишень). STK представляет собой «стебель» CD8, но может представлять собой любой некрупный внеклеточный домен. CD28tm представляет собой трансмембранный домен CD28, но может представлять собой любой стабильный трансмембранный домен белка I типа и CD3Z представляет собой дзета-эндодомен CD3, но может представлять собой любой эндодомен, который содержит ITAM. Сигнал2 представляет собой сигнальный пептид, полученный из CD8, но может представлять собой любой эффективный сигнальный пептид, который отличается последовательностью ДНК от сигнала1. scFv распознает CD33, но как и для scFv1, является произвольным. НС2CH3 представляет собой шарнир-CH2-CH3 из IgG1 человека, но может представлять собой любой крупный внеклеточный домен. CD45 и CD148 представляют собой трансмембранные и эндодомены CD45 и CD148, соответственно, но могут быть получены из любого белка этого класса.

Фиг. 9: схематическое представление структуры белков химерных антигенных рецепторов (CAR) для логических элементов И

Стимулирующий CAR состоит из N-концевого scFV-домена против CD19, за которым следует область внеклеточного «стебля» из CD8 человека, трансмембранный домен CD28 человека и внутриклеточного дзета-домена CD3 человека (CD247). Тестировали два ингибирующих CAR. Они состоят из N-концевого scFV-домена против CD33, за которым следует область внеклеточного шарнира, CH2 и CH3 (содержащая мутацию pva для того, чтобы снижать связывание FcR) из IgG1 человека, за которой следует трансмембранный и внутриклеточный домен любого из CD148 или CD45 человека. «S» обозначает присутствие дисульфидных связей.

Фиг. 10: коэкспрессия активирующих и ингибирующих CAR

В качестве эффекторных клеток использовали клетки BW5147, которые трансдуцировали для того, чтобы экспрессировать как активирующий CAR против CD19, так и один из ингибирующих CAR против CD33. Эффекторные клетки окрашивали с использованием Fc мыши к CD19 и Fc кролика к CD33 и подходящих вторичных антител и анализировали с помощью проточной цитометрии.

Фиг. 11: функциональный анализ логических элементов И

Эффекторные клетки (5×10^4 клеток), экспрессирующие активирующий CAR против CD19 и ингибирующий CAR против CD33 с внутриклеточным доменом A) CD148 или B) CXD45, совместно инкубировали с различным числом клеток-мишеней и анализировали IL-2 после 16 часов с помощью ELISA. На графике представлена максимальная секреция IL-2 от химической стимуляции (PMA и иономицин) только эффекторных клеток и фоновый IL-2 от эффекторных клеток без какого-либо стимула из трех повторений.

Фиг. 12: схематическое представление трех версий кассеты, используемой для того, чтобы генерировать логический элемент И ИЕ

Активирующие и ингибирующие CAR совместно экспрессировали еще раз с использованием последовательности FMD-2A. Сигнал1 представляет собой сигнальный пептид, полученный из IgG1 (но может представлять собой любой эффективный сигнальный пептид). scFv1 представляет собой одноцепочечный вариабельный сегмент, который распознает CD19 (но может представлять собой scFv или пептидную петлю или лиганд или фактически любой домен, который распознает любую желаемую произвольную мишень). STK представляет собой «стебель» CD8 человека, но может представлять собой любой некрупный внеклеточный домен. CD28tm представляет собой трансмембранный домен CD28, но может представлять собой любой стабильный трансмембранный домен белка I типа, и CD3Z представляет собой дзета-эндодомен CD3, но может представлять собой любой эндодомен, который содержит ITAM. Сигнал2 представляет собой сигнальный пептид, полученный из CD8, но может представлять собой любой эффективный сигнальный пептид, который отличается последовательностью ДНК от сигнала1. scFv распознает CD33, но как и для scFv1, является произвольным. muSTK представляет собой «стебель» CD8 мыши, но может представлять собой любой спейсер, который совместно локализован, но не образует перекрестные пары с таковым из активирующего CAR. dPTPN6 представляет собой фосфатазный домен из PTPN6. LAIR1 представляет собой трансмембранный и эндодомен из LAIR1. 2Aw представляет собой версию последовательности FMD-2A с неоднозначностью кодонов. SH2-CD148 представляет собой домен SH2 из PTPN6, слитый с фосфатазным доменом из CD148.

Фиг. 13: схематическое представление химерных антигенных рецепторов (CAR) для логических элементов ИЕ И

А) стимулирующий CAR, состоящий из N-концевого scFV-домена против CD19, за

которым следует область «стебля» из CD8 человека, трансмембранный домен CD28 человека и внутриклеточный домен CD247 человека. В) ингибирующий CAR, состоящий из N-концевого scFV-домена против CD33, за которым следует область «стебля» из CD8 мыши, трансмембранная область из CD8 мыши и фосфатазный домен из PTPN6.

5 С) ингибирующий CAR, состоящий из N-концевого scFV-домена против CD33, за которым следует область «стебля» из CD8 мыши и трансмембранный и внутриклеточный сегменты из LAIR1. D) ингибирующий CAR, идентичный предыдущему CAR, за исключением того, что его коэкспрессируют со слитным белком из домена SH2 PTPN6 и фосфатазного домена CD148.

10 Фиг. 14: функциональный анализ логического элемента НЕ И

Эффекторные клетки (5×10^4 клеток), экспрессирующие А) полноразмерный SHP-1 или В) усеченную форму SHP-1, совместно инкубировали с различным числом клеток-мишеней и анализировали IL-2 после 16 часов с помощью ELISA. На графике представлена усредненная максимальная секреция IL-2 от химической стимуляции (РМА и иономицин) только эффекторных клеток и усредненный фоновый IL-2 от эффекторных клеток без какого-либо стимула из трех повторений.

15 Фиг. 15: аминокислотная последовательность логического элемента ИЛИ

Фиг. 16: аминокислотная последовательность логического элемента И на основе CD148 и CD145

20 Фиг. 17: аминокислотная последовательность двух логических элементов И НЕ

Фиг. 18: разбор функции логического элемента И

А. Прототип логического элемента И проиллюстрирован справа и его функция в ответ на одинарные CD19, CD33 и двойные CD19, CD33 положительные мишени представлена слева. В. ScFv меняют местами так, что активирующий эндодомен запускают с помощью CD33, а ингибирующий эндодомен активируют с помощью CD19. Этот логический элемент И остается функциональным, несмотря на то, что эти scFv меняют местами. С. «Стебель» CD8 мыши заменял Fc в спайсере ингибирующего CAR. При этой модификации логический элемент не способен реагировать на любую из одинарной CD19 положительной или двойной CD19, CD33 положительной мишени.

30 Фиг. 19: экспрессия антигенов-мишеней на искусственных клетках-мишениях

А. Представлены диаграммы рассеяния при проточной цитометрии CD19 в сравнении с CD33 из исходного набора искусственных клеток-мишеней, полученных из клеток SupT1. Слева направо: двойные негативные клетки SupT1, клетки SupT1, положительные по CD19, положительные по CD33 и положительные по CD19 и CD33. В. Представлены

35 диаграммы рассеяния при проточной цитометрии CD19 в сравнении с GD2 из искусственных клеток-мишеней, созданных для того, чтобы тестировать логический элемент CD19 И GD2. Слева направо: негативные клетки SupT1, клетки SupT1, экспрессирующие CD19, клетки SupT1, трансдуцированные векторами синтазы GD2 и GM3, которые становятся GD2 положительными, и клетки SupT1, трансдуцированные

40 с использованием CD19, а также синтазы GD2 и GM3, которые положительны по обоим GD2 и CD19. С. Представлены диаграммы рассеяния при проточной цитометрии для CD19 в сравнении с EGFRvIII из искусственных мишеней, созданных для того, чтобы тестировать логический элемент CD19 И EGFRvIII. Слева направо: негативные клетки SupT1, клетки SupT1, экспрессирующие CD19, клетки SupT1, трансдуцированные с

45 использованием EGFRvIII, и клетки SupT1, трансдуцированные с использованием как CD19, так и EGFRvIII. Д. Представлены диаграммы рассеяния при проточной цитометрии для CD19 в сравнении с CD5 из искусственных мишеней, созданных для того, чтобы тестировать логический элемент CD19 И CD5. Слева направо: негативные 293T клетки,

293T клетки, трансдуцированные с использованием CD19, 293T клетки, трансдуцированные с использованием CD5, 293T клетки, трансдуцированные с использованием обоих векторов CD5 и CD19.

Фиг. 20: Генерализуемость логического элемента И

- 5 А. Схематическое изображение логического элемента И, модифицированного так, что специфичность второго CAR изменена с исходной специфичности CD33, чтобы генерировать 3 новых CAR: CD19 И GD2, CD19 И EGFRvIII, CD19 И CD5. В. Логический элемент CD19 И GD2 И: слева: экспрессия логического элемента И показана окрашиванием рекомбинантным CD19-Fc (ось x) для CD19 CAR, в зависимости от окрашивания против Fc человека (ось y) для GD2 CAR. Справа: функция в ответ на одинарные положительные и двойные положительные мишени. С. Логический элемент CD19 И EGFRvIII И: слева: экспрессия логического элемента И показана окрашиванием рекомбинантным CD19-Fc (ось x) для CD19 CAR, в зависимости от окрашивания против Fc человека (ось y) для EGFRvIII CAR. Справа: функция в ответ на одинарные положительные и двойные положительные мишени. Д. Логический элемент CD19 И CD5 И: слева: экспрессия логического элемента И показана окрашиванием рекомбинантного CD19-Fc (ось x) для CD19 CAR, в зависимости от окрашивания против Fc человека (ось y) для CD5 CAR. Справа: функция в ответ на одинарные положительные и двойные положительные мишени.
- 10
- 15
- 20

Фиг. 21: функция логических элементов И НЕ

- Представлена функция трех реализаций логического элемента И НЕ. Схематическое представление протестированных логических элементов приведено справа, а функция в ответ на одинарные положительные и двойные положительные мишени приведена слева. А. Логический элемент И НЕ на основе PTPN6, посредством которого первый CAR распознает CD19, имеет спайсер «стебля» CD8 человека и ITAM-содержащий активирующий эндодомен; коэкспрессируют со вторым CAR, который распознает CD33, имеет спайсер «стебля» CD8 мыши и имеет эндодомен, который содержит фосфатазный домен PTPN6. В. логический элемент И НЕ на основе ITIM идентичен логическому элементу PTPN6, за исключением того, что эндодомен заменяют на эндодомен из LAIR1. С. Усиленный CD148 логический элемент И НЕ идентичен логическому элементу на основе ITIM, за исключением того, что экспрессируют дополнительное слияние между PTPN6 SH2 и эндодоменом из CD148. Все три логических элемента работают в соответствии с ожиданиями с активацией в ответ на CD19, но не в ответ на CD19 и CD33 вместе.
- 25
- 30
- 35

Фиг. 22: Разбор функции логического элемента И НЕ на основе PTPN6

- Исходный логический элемент И НЕ на основе PTPN6 сравнивают с несколькими контролями для того, чтобы демонстрировать модель. Схематическое представление протестированных логических элементов приведено справа, а функция в ответ на одинарные положительные и двойные положительные мишени приведена слева. А. Исходный логический элемент И НЕ, с помощью которого первый CAR распознает CD19, имеет спайсер «стебля» CD8 человека и ITAM-содержащий активирующий эндодомен; коэкспрессируют со вторым CAR, который распознает CD33, имеет спайсер «стебля» CD8 мыши и имеет эндодомен, состоящий из фосфатазного домена PTPN6. В. Логический элемент И НЕ, модифицированный так, что спайсер «стебля» CD8 мыши заменен на Fc спайсер. С. Логический элемент И НЕ, модифицированный с тем, чтобы заменить фосфатазный домен PTPN6 на эндодомен из CD148. Исходный логический элемент И НЕ (А.) функционирует в соответствии с ожиданиями, запускаясь в ответ на CD19, но не в ответ на оба CD19 и CD33. Логический элемент в В. запускается как в
- 40
- 45

ответ только на CD19 или вместе на CD19 и CD33. Логический элемент в С. не запускается в ответ на одну или обе мишени.

Фиг. 23: разбор логического элемента И НЕ на основе LAIR1

Показана функциональная активность против CD19 положительных, CD33

- 5 положительных и CD19, CD33 двойных положительных мишней. А. Структура и активность исходного логического элемента И НЕ на основе ITIM. Этот логический элемент состоит из двух CAR: первый распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и ITAM-содержащий эндодомен; второй CAR распознает CD33, имеет спейсер «стебля» CD8 мыши и ITIM-содержащий эндодомен. В. Структура и активность
- 10 контрольного логического элемента на основе ITIM, где спейсер «стебля» CD8 мыши заменен на Fc домен. Этот логический элемент состоит из двух CAR: первый распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и ITAM-содержащий эндодомен; второй CAR распознает CD33, имеет Fc спейсер и ITIM-содержащий эндодомен. Оба логических элемента отвечают на одинарные CD19 положительные мишени, тогда как только
- 15 исходный логический элемент неактивен в ответ на двойные CD19 и CD33 положительные мишени.

Фиг. 24: Модель кинетической сегрегации логических элементов CAR

Модель кинетической сегрегации и поведения логического элемента И, логического элемента НЕ И и контролей. CAR распознают или CD19 или CD33. Иммунологический

- 20 синапс можно представить между голубой линией, которая представляет мембрану клетки-мишени, и красной линией, которая представляет Т-клеточную мембрану. «45» представляет нативный белок CD45, присутствующий на Т-клетках. «H8» представляет эктодомен CAR со «стеблем» CD8 человека в качестве спейсера. «Fc» представляет эктодомен CAR с HCH2CH3 человека в качестве спейсера. «M8» представляет собой
- 25 эктодомен CAR с мышьным «стеблем» CD8 в качестве спейсера. «19» представляет CD19 на поверхности клетки-мишени. «33» представляет CD33 на поверхности клетки-мишени. Символ «⊕» представляет активирующий эндодомен, содержащий ITAM.

- 30 Символ «» «представляет фосфатазу с медленной кинетикой - «включаемый

лигированием» эндодомен, такой как тот, что содержит каталитический домен из PTPN6 или ITIM. Символ «⊖» представляет фосфатазу с быстрой кинетикой - «выключаемый лигированием» эндодомен, такой как эндодомен из CD45 или CD148. Этот символ увеличен на фиг., чтобы подчеркнуть его высокую активность.

- (a) Представлено предполагаемое поведение функционального логического элемента И, который содержит пару CAR, посредством чего первый CAR распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; и второй CAR распознает CD33, имеет Fc спейсер и эндодомен CD148;

- (b) Представлено предполагаемое поведение контрольного логического элемента И. Здесь первый CAR распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; и второй CAR распознает CD33, но имеет спейсер «стебля» CD8 мыши и эндодомен CD148;

- (c) Представлено поведение функционального логического элемента И НЕ, который содержит пару CAR, посредством чего первый CAR распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; и второй CAR распознает CD33,

имеет спейсер «стебля» CD8 мыши и эндодомен PTPN6;

(d) Представлено предполагаемое поведение контрольного логического элемента И НЕ, который содержит пару CAR, посредством чего первый CAR распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; и второй CAR распознает CD33, но имеет Fc спейсер и эндодомен PTPN6;

В первой колонке клетки-мишени являются негативными как по CD19, так и по CD33. Во второй колонке мишени являются CD19 негативными и CD33 положительными. В третьей колонке клетки-мишени являются CD19 положительными и CD33 негативными. В четвертой колонке клетки-мишени являются положительными как по CD19, так и по CD33.

Фиг. 25: Конструкция CAR на основе APRIL.

Конструкцию CAR модифицировали с тем, чтобы заменять scFv на модифицированную форму индуцирующего пролиферацию лиганда (APRIL), который взаимодействует с BCMA, TACI и протеогликанами, чтобы действовать в качестве антигенсвязывающего домена: APRIL усечен с тем, чтобы отсутствовал амино-конец, связывающий протеогликаны. После этого сигнальный пептид прикрепляли к усеченному амино-концу APRIL, чтобы направлять белок на клеточную поверхность. Эти CAR генерировали с использованием этого связывающего домена на основе APRIL: А. В первом CAR домен «стебля» CD8 человека использовали в качестве спейсерного домена. В. Во втором CAR шарнир из IgG1 использовали в качестве спейсерного домена. С. В третьем CAR домены шарнира, CH2 и CH3 из IgG1 человека, модифицированные мутациями pva/a, описанными у Hombach et al (2010 Gene Ther. 17:1206-1213) для того, чтобы снижать связывание Fc рецептора, использовали в качестве спейсера (в дальнейшем обозначают как Fc-pvaa). Во всех CAR эти спейсеры соединяли с трансмембранным доменом CD28 и затем с тройным эндодоменом, содержащим слияние CD28, OX40 и дзета-эндодомена CD3 (Pule et al, Molecular Therapy, 2005: том 12; выпуск 5; стр. 933-41).

Фиг. 26: аннотированная аминокислотная последовательность трех вышеприведенных APRIL-CAR

А: представлена аннотированная аминокислотная последовательность CAR со «стеблем» CD8 и APRIL; В: представлена аннотированная аминокислотная последовательность CAR на основе шарнира IgG1 и APRIL; С: представлена аннотированная аминокислотная последовательность CAR на основе APRIL и Fc-pvaa.

Фиг. 27: экспрессия и связывание лиганда различными CAR на основе APRIL

А. Рецепторы совместно экспрессировали с маркерным геном усеченным CD34 в векторе с ретровирусными генами. Экспрессия маркерного гена на трансдуцированных клетках делает возможным подтверждение трансдукции. В. Т-клетки трансдуцировали с использованием CAR на основе APRIL и спейсера из «стебля» CD8, шарнира IgG1 или Fc спейсера. Для того чтобы тестировать возможность стабильной экспрессии этих рецепторов на клеточной поверхности, затем Т-клетки окрашивали с APC против APRIL-биотина/стрептавидина и против CD34. Осуществляли анализ проточной цитометрии. APRIL в равной мере обнаруживали на клеточной поверхности в трех CAR, что наводит на мысль об их стабильной экспрессии в равной мере. С. Затем определяли способность CAR распознавать TACI и BCMA. Трансдуцированные Т-клетки окрашивали с использованием или рекомбинантного BCMA или TACI, слитого со слитной конструкцией IgG2a мыши Fc, наряду со вторичным против мыши и против CD34. Все три формата рецепторов демонстрировали связывание как с BCMA, так и с TACI. К удивлению, обнаруживали, что связывание BCMA казалось большим, чем с TACI. Кроме

того, к удивлению обнаруживали, что несмотря на то, что все три CAR были экспрессированы в равной мере, CAR со «стеблем» CD8 и шарниром IgG1 выглядели лучше при распознавании BCMA и TACI, чем тот, что с Fc спейсером.

Фиг. 28: функция различных конструкций CAR.

- 5 Осуществляли функциональный анализ с использованием трех различных CAR на основе APRIL. Т-клетки периферической крови нормального донора или не трансдуцировали (NT) или трансдуцировали для того, чтобы экспрессировать различные CAR. Трансдукцию осуществляли с использованием супернатантов с равными титрами. Затем эти Т-клетки обедняли по CD56 для того, чтобы удалять неспецифичную NK
 10 активность и использовали в качестве эффекторов. Клетки SupT1, которые или не трансдуцировали (NT) или трансдуцировали для того, чтобы экспрессировать BCMA или TACI, использовали в качестве мишеней. Представленные данные представляют собой среднее и стандартное отклонение из 5 независимых экспериментов. А. Специфичное уничтожение Т-клеток, экспрессирующих BCMA и TACI, определяли с
 15 использованием высвобождения хрома. В. Также определяли высвобождение интерферона- μ . Мишени и эффекторы совместно культивировали в соотношении 1:1. После 24 часов интерферон- μ в супернатанте анализировали с помощью ELISA. С. Пролиферация/выживаемость Т-клеток с CAR также определяли посредством подсчета числа Т-клеток с CAR в той же совместной культуре, которую инкубировали в течение
 20 дополнительных 6 суток. Все 3 CAR направляют ответ против мишней, экспрессирующих BCMA и TACI. Ответы на BCMA были больше, чем для TACI.

Фиг. 29: функциональность логического элемента И в первичных клетках

- РВМС выделяли из крови и стимулировали с использованием РНА и IL-2. Двумя сутками позже клетки трансдуцировали на покрытых ретронектином планшетах
 25 ретровирусом, содержащим конструкцию CD19:CD33 логического элемента И. На сутки 5 уровень экспрессии двух CAR, транслируемых с помощью конструкции логического элемента И, оценивали через проточную цитометрию, и клетки обедняли по CD56+ клеткам (преимущественно естественные киллерные клетки). В сутки 6 РВМС помещали в совместную культуру с клетками-мишнями с соотношением эффектора к клетке-
 30 мишени 1:2. В сутки 8 супернатант собирали и анализировали на секрецию IFN- γ с помощью ELISA

- Фиг. 30: показан отбор/иерархия возможных спейсерных доменов увеличивающегося размера. Эктодомен CD3-дзета предложен в качестве самого короткого возможного спейсера, за которым следует (b) шарнир IgG1. (c) «стебель» CD8 мыши или человека, 35 и эктодомены CD28 считаются промежуточными по размеру и совместно сегрегирующими. (d) домен шарнира, CH2 и CH3 из IgG1 больше и объемнее, и (e) шарнир, CH2, CH3 и CH4 домен из IgM еще больше. Учитывая свойства молекул-мишней и эпитопа связывающих доменов на указанных молекулах-мишнях, возможно использовать эту иерархию спейсеров для того, чтобы создавать CAR систему передачи
 40 сигналов, которая или совместно сегрегируется или сегрегируется раздельно при формировании синапса.

- Фиг. 31: правила конструирования для создания Т-клеток с CAR с логическими элементами. CAR с логическими элементами ИЛИ, И НЕ и И представлены в схематическом формате с клеткой-мишенью сверху и Т-клеткой внизу и с синапсом в середине. Клетки-мишени экспрессируют произвольные антигены-мишени A и B.
 45

Т-клетки экспрессируют два CAR, которые содержат распознающие домены против A и против B, спейсеры и эндодомены. Для логического элемента ИЛИ необходимы (1) спейсеры, которые просто делают возможным антигенное распознавание и активацию

CAR, и (2) оба CAR, имеющие активирующие эндодомены; для логического элемента И НЕ необходимы (1) спейсеры, которые ведут к совместной сегрегации обоих CAR при распознавании обоих антигенов и (2) один CAR с активирующим эндодоменом, и другой, эндодомен которого содержит или вовлекает слабую фосфатазу; для логического

5 элемента И необходимы (1) спейсеры, которые ведут к сегрегации обоих CAR в различные части иммунологического синапса при распознавании обоих антигенов и (2) один CAR с активирующим эндодоменом, и другой, эндодомен которого содержит сильную фосфатазу.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ АСПЕКТОВ ИЗОБРЕТЕНИЯ

10 Авторы настоящего изобретения разработали панель пар химерных антигенных рецепторов «с логическими элементами», которые при экспрессии клеткой, такой как Т-клетка, способны обнаруживать конкретный паттерн экспрессии по меньшей мере из двух антигенов-мишеней. Если по меньшей мере два антигена-мишени произвольно обозначены, как антиген А и антиген В, три возможных варианта представляют собой 15 следующее:

«ЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ ИЛИ» - Т-клетка запускается, когда антиген А или антиген В присутствует на клетке-мишени

«ЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ И» - Т-клетка запускается только когда оба антигена А и В присутствуют на клетке-мишени

20 «ЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ И НЕ» - Т-клетка запускается, если только антиген А присутствует на клетке-мишени, но не если оба антигена А и В присутствуют на клетке-мишени

Сконструированные Т-клетки, экспрессирующие эти комбинации CAR, можно адаптировать так, чтобы они обладали узкой специфичностью к клеткам

25 злокачественной опухоли на основании их конкретной экспрессии (или отсутствия экспрессии) двух или более маркеров.

Таким образом, в первом аспекте настоящее изобретение предусматривает клетку, которая совместно экспрессирует первый химерный антигенный рецептор (CAR) и второй CAR на клеточной поверхности, каждый CAR содержит:

- 30 (i) антигенсвязывающий домен;
 (ii) спейсер
 (iii) трансмембранный домен; и
 (iv) внутриклеточный домен Т-клеточной сигнализации (эндодомен)

в которых антигенсвязывающие домены первого и второго CAR связываются с

35 различными антигенами и в которых спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, так что первый и второй CAR не образуют гетеродимеры, и в которых один из первого или второго CAR представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий внутриклеточный домен Т-клеточной сигнализации, и другой CAR представляет собой ингибирующий CAR, который содержит «выключаемый

40 лигированием» (как определено в настоящем документе) ингибирующий внутриклеточный домен Т-клеточной сигнализации.

Клетка может представлять собой иммунную эффекторную клетку, такую как Т-клетка или естественная киллерная клетка (NK). Признаки, отмеченные в настоящем документе применительно к Т-клетке, применимы в равной мере к другим иммунным 45 эффекторным клеткам, таким как естественные киллерные клетки.

Спейсер первого CAR может иметь длину и/или заряд и/или геометрическую форму и/или конфигурацию и/или гликозилирование, отличающиеся от спейсера второго CAR, так что когда первый CAR и второй CAR связывают соответствующие им антигены-

мишени, первый CAR и второй CAR становятся пространственно разделенными на Т-клетке. Лигирование первого и второго CAR с соответствующими им антигенами вызывает их компартментализацию вместе или отдельно в иммунологическом синапсе, что ведет к управлению активацией. Это можно понять, рассмотрев модель

5 кинетического разделения активации Т-клеток (см. далее).

Первый спейсер или второй спейсер может содержать «стебель» CD8 и другой спейсер может содержать домен шарнира, CH2 и CH3 из IgG1.

В настоящем изобретении, которое относится к логическому элементу «И», один из первого или второго CAR представляет собой активирующий CAR, который содержит

10 активирующий эндодомен, и другой CAR представляет собой «выключаемый лигированием» ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен.

Выключаемый лигированием ингибирующий CAR ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR в отсутствие лигирования ингибирующего CAR, но не значительно ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR, когда

15 ингибирующий CAR лигирован. Поскольку спейсер первого CAR имеет длину и/или заряд и/или геометрическую форму и/или конфигурацию и/или гликозилирование, отличающееся от спейсера второго CAR, когда оба CAR лигированы, они сегрегируются. Это вызывает пространственное отделение ингибирующего CAR от активирующего

20 CAR с тем, чтобы могла происходить активация Т-клетки. Следовательно, активация Т-клеток происходит только в ответ на клетку-мишень, несущую оба когнатных антигена.

Ингибирующий эндодомен может содержать весь или часть эндодомена из рецептороподобной тирозиновой фосфатазы, такой как CD148 или CD45.

Антигенсвязывающий домен первого CAR может связывать CD5 и

25 антигенсвязывающий домен второго CAR может связывать CD19. Это имеет применение при направленном воздействии на хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL). Это заболевание можно лечить посредством направленного воздействия только на CD19, но за счет истощения всего В-клеточного компартмента. CLL клетки отличаются тем, что они совместно экспрессируют CD5 и CD19. Направленное воздействие на эту пару

30 антигенов с использованием логического элемента И будет увеличивать специфичность и снижать токсичность.

Во втором аспекте настоящее изобретение предусматривает последовательность нукleinовой кислоты, которая кодирует как первый, так и второй химерные антигенные рецепторы (CAR), как определено в первом аспекте изобретения.

35 Соответственно, последовательность нукleinовой кислоты может иметь следующую структуру: AgB1-спейсер1-TM1-эндо1-коэкспр-AgB2-спейсер2-TM2-эндо2, в которой

AgB1 представляет собой последовательность нукleinовой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

40 спейсер1 представляет собой последовательность нукleinовой кислоты, которая кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой последовательность нукleinовой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой последовательность нукleinовой кислоты, которая кодирует эндодомен первого CAR;

коэкспр представляет собой последовательность нукleinовой кислоты, которая допускает коэкспрессию двух CAR (например, сайт расщепления);

AgB2 представляет собой последовательность нукleinовой кислоты, которая

кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует

5 трансмембранный домен второго CAR;

эндо2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует эндодомен второго CAR;

эта последовательность нуклеиновой кислоты, при экспрессии в Т-клетке, кодирует полипептид, который расщепляют в сайте расщепления так, что первый и второй CAR

10 совместно экспрессируют на поверхности Т-клеток.

Последовательность нуклеиновой кислоты, допускающая коэкспрессию двух CAR, может кодировать саморасщепляющийся пептид или последовательность, которая допускает альтернативное средство коэкспрессирующих двух CAR, таких как внутренняя последовательность связывания рибосомы или второй промотор или другое такое

15 средство, посредством которого специалист в данной области может экспрессировать два белка с одного и того же вектора.

Альтернативные кодоны можно использовать в областях последовательности, кодирующих одинаковые или схожие аминокислотные последовательности, во избежание гомологичной рекомбинации.

20 В третьем аспекте настоящее изобретение предусматривает набор, который содержит (i) первую последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует первый химерный антигенный рецептор (CAR), как определено в первом аспекте изобретения, эта последовательность нуклеиновой кислоты имеет следующую структуру:

AgB1-спейсер1-TM1-эндо1

25 в которой

AgB1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует спейсер первого CAR;

30 TM1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует эндодомен первого CAR; и

(ii) вторую последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует второй

35 химерный антигенный рецептор (CAR), как определено в первом аспекте изобретения, эта последовательность нуклеиновой кислоты имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2

AgB2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

40 спейсер2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

эндо2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая

45 кодирует эндодомен второго CAR.

В четвертом аспекте настоящее изобретение предусматривает набор, который содержит: первый вектор, который содержит первую последовательность нуклеиновой кислоты, как определено выше; и второй вектор, который содержит первую

последовательность нуклеиновой кислоты, как определено выше.

Векторы могут представлять собой плазмидные векторы, ретровирусные векторы или транспозонные векторы. Векторы могут представлять собой лентивирусные векторы.

- 5 В пятом аспекте настоящее изобретение предусматривает вектор, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты согласно второму аспекту изобретения. Вектор может представлять собой лентивирусный вектор.

Вектор может представлять собой плазмидный вектор, ретровирусный вектор или транспозонный вектор.

- 10 В шестом аспекте настоящее изобретение включает коэкспрессию больше чем двух CAR таким образом, что на клетке-мишени можно распознавать комплексный паттерн больше чем из двух антигенов.

15 В седьмом аспекте настоящее изобретение предусматривает способ получения Т-клетки согласно первому аспекту изобретения, который включает стадию введения одной или нескольких последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих первый и второй CAR; или одного или нескольких векторов, как определено выше, в Т-клетку.

- 20 Т-клетка может быть из образца, выделенного у пациента, родственного или неродственного донора гематопоэтического трансплантата, полностью несвязанного донора, из пуповинной крови, дифференцирована из эмбриональной клеточной линии, дифференцирована из индуцибельной линии клеток-предшественников или получена из трансформированной линии Т-клеток.

25 В восьмом аспекте настоящее изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, которая содержит множество Т-клеток в соответствии с первым аспектом изобретения.

- 30 В девятом аспекте настоящее изобретение предусматривает способ лечения и/или предотвращения заболевания, который включает стадию введения субъекту фармацевтической композиции в соответствии с восьмым аспектом изобретения.

Способ может включать следующие стадии:

- (i) выделение Т-клетки, как перечислено выше.
 35 (ii) трансдукция или трансфекция Т-клеток одной или несколькими последовательностями нуклеиновой кислоты, которые кодируют первый и второй CAR, или одним или несколькими векторами, которые содержат такую последовательность (последовательности) нуклеиновой кислоты; и
 (iii) введение Т-клеток из (ii) субъекту.

35 Заболевание может представлять собой злокачественную опухоль.

В десятом аспекте настоящее изобретение предусматривает фармацевтическую композицию в соответствии с восьмым аспектом изобретения для использования в лечении и/или предотвращении заболевания.

- 40 Заболевание может представлять собой злокачественную опухоль.
 В одиннадцатом аспекте настоящее изобретение предусматривает использование Т-клетки в соответствии с первым аспектом изобретения при изготовлении лекарственного средства для лечения и/или предотвращения заболевания.

Заболевание может представлять собой злокачественную опухоль.

- 45 Настоящее изобретение также относится к последовательности нуклеиновой кислоты, которая содержит:
 а) первую нуклеотидную последовательность, которая кодирует первый химерный антигенный рецептор (CAR);
 б) вторую нуклеотидную последовательность, которая кодирует второй CAR;

с) последовательность, которая кодирует саморасщепляющийся пептид расположенный между первой и второй нуклеотидными последовательностями, так что два CAR экспрессируют в виде отдельных объектов.

Альтернативные кодоны можно использовать в одной или нескольких частях первой

5 и второй нуклеотидных последовательностях в областях, которые кодируют одинаковые или схожие аминокислотные последовательности.

Настоящее изобретение также относится к вектору и клетке, которые содержат такую нуклеиновую кислоту.

Логический элемент И на основе кинетической сегрегации по настоящему

10 изобретению дает значительное техническое преимущество относительно ранее описанных «совместных CAR», т. е. подход двойного направленного воздействия, в котором два антигена распознаются двумя CAR, которые подают или активирующий или костимулирующий сигнал Т-клетке.

При использовании подхода с совместными CAR, несмотря на то, что наибольшую

15 активность можно ожидать в отношении клеток-мишеней, несущих оба антигена, можно ожидать существенную активность в отношении тканей, несущих только антиген, распознаваемый с помощью активирующего CAR. Можно ожидать, что эта активность должна быть по меньшей мере таковой CAR первого поколения. CAR первого поколения приводили к существенной токсичности: например, билиарную токсичность наблюдали

20 при клиническом тестировании CAR первого поколения, распознавающего карбоангидразу IX, которая неожиданно была экспрессирована на билиарном эпителии (ссылка на Rotterdam). Стоит отметить, что терминально дифференцированные эффекторы не требуют или не отвечают на костимуляторные сигналы, так что любые терминально дифференцированные CAR Т-клетки будут действовать максимально, несмотря на

25 отсутствие костимуляторного CAR сигнала.

Кроме того, костимуляторные сигналы ведут к длительным эффектам, оказываемым на популяцию Т-клеток. Эти эффекты делятся дольше, чем взаимодействие в синапсе Т-клетка/мишень. Следовательно, CAR Т-клетки, которые становятся полностью

30 активированными в опухоли и мигрируют, могут иметь максимально высокую активность в отношении нормальных тканей, несущих один антиген. Этот эффект «выхода за пределы» может быть наиболее выражен в тканях внутри или вблизи опухоли или в которые дренируется опухоль. Фактически, предложены и тестированы стратегии на основании концепции активности CAR первого поколения, усиливающейся

35 костимуляторными сигналами, не связанными с CAR активацией, но опосредованы

отдельным рецептором (Rossig, Blood. 2002 Mar 15;99(6):2009-16.).

Таким образом, можно ожидать, что подход с совместными CAR даст в лучшем случае снижение, но не устранение токсичности в отношении нормальной ткани, экспрессирующей одиночный антиген. В настоящем изобретении используют

кинетическую сегрегацию в иммунологическом синапсе, образованном между Т-клеткой 40 и клеткой-мишенью, чтобы регулировать запуск самой Т-клетки. Следовательно, достигают абсолютно строгого контроля запуска в отсутствие второго антигена. Таким образом, вся активация Т-клеток ограничена клетками-мишениями, экспрессирующими оба антигена, логический элемент И должен функционировать независимо от типа

45 эффекторной клетки или состояния дифференциации и невозможен эффект выхода логического элемента И за пределы активации Т-клеток.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение также относится к аспектам, перечисленным в следующих номерных абзацах:

1. Т-клетка, которая совместно экспрессирует первый химерный антигенный рецептор (CAR) и второй CAR на клеточной поверхности, каждый CAR содержит:

- (i) антигенсвязывающий домен;
- (ii) спейсер;
- 5 (iii) трансмембранный домен; и
- (iv) эндодомен

в которых антигенсвязывающие домены первого и второго CAR связываются с различными антигенами, в которых спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR и в которых один из первого или второго CAR представляет собой

10 активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, и другой CAR представляет собой или активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, или ингибирующий CAR, который содержит включаемый лигированием или выключаемый лигированием ингибирующий эндодомен.

2. Т-клетка в соответствии с п. 1, в которой спейсер первого CAR имеет длину и/или

15 заряд и/или размер и/или конфигурацию и/или гликозилирование, отличающиеся от спейсера второго CAR, так что когда первый CAR и второй CAR связывают соответствующие им антигены-мишени, первый CAR и второй CAR становятся пространственно разделенными на мембране Т-клетки.

3. Т-клетка в соответствии с п. 2, в которой или первый спейсер или второй спейсер

20 содержит «стебель» CD8 и другой спейсер содержит домен шарнира, CH2 и CH3 из IgG1.

4. Т-клетка в соответствии с п. 1, в которой как первый, так и второй CAR представляют собой активирующие CAR.

5. Т-клетка в соответствии с п. 4, в которой один CAR связывает CD19 и другой CAR связывает CD20.

25 6. Т-клетка в соответствии с п. 2 или 3, в которой один из первого или второго CAR представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, и другой CAR представляет собой ингибирующий CAR, который содержит выключаемый лигированием ингибирующий эндодомен, этот ингибирующий CAR ингибит активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR в отсутствие лигирования

30 ингибирующего CAR, но не значительно ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR, когда ингибирующий CAR лигирован.

7. Т-клетка в соответствии с п. 6, в которой ингибирующий эндодомен содержит весь эндодомен из CD148 или CD45 или его часть.

8. Т-клетка в соответствии с п. 6 или 7, в которой антигенсвязывающий домен первого CAR связывает CD5 и антигенсвязывающий домен второго CAR связывает CD19.

9. Т-клетка в соответствии с п. 1, в которой первый и второй спейсеры достаточно различны с тем, чтобы предотвращать образование перекрестных пар первого и второго CAR, но достаточно схожи, чтобы это приводило к совместной локализации первого и второго CAR после лигирования.

40 10. Т-клетка в соответствии с п. 9, в которой один из первого или второго CAR представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, и другой CAR представляет собой ингибирующий CAR, который содержит включаемый лигированием ингибирующий эндодомен, этот ингибирующий CAR не значительно ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR в отсутствие

45 лигирования ингибирующего CAR, но ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR, когда ингибирующий CAR лигирован.

11. Т-клетка в соответствии с п. 10, в которой включаемый лигированием ингибирующий эндодомен содержит по меньшей мере часть фосфатазы.

12. Т-клетка в соответствии с п. 11, в которой включаемый лигированием ингибирующий эндодомен содержит весь PTPN6 или его часть.

13. Т-клетка в соответствии с п. 10, в которой включаемый лигированием ингибирующий эндодомен содержит по меньшей мере один ITIM-домен.

5 14. Т-клетка в соответствии с п. 13, в которой активность включаемого лигированием ингибирующего эндодомена усиливают посредством коэкспрессии слитного белка PTPN6-CD45 или -CD148.

10 15. Т-клетка в соответствии с любым из пп. с 10 до 14, в которой CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержит антигенсвязывающий домен, который связывает CD33, и CAR, который содержит включаемый лигированием ингибирующий эндодомен, содержит антигенсвязывающий домен, который связывает CD34.

16. Т-клетка, которая содержит больше чем два CAR, как определено в предшествующих пп., так что ее специфично стимулирует клетка, такая как Т-клетка, несущая отличающий паттерн больше чем из двух антигенов.

15 17. Последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует как первый, так и второй химерные антигенные рецепторы (CAR), как определено в любом из пп. с 1 до 16.

18. Последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с п. 17, которая имеет следующую структуру:

20 AgB1-спейсер1-TM1-эндо1-коэхспр-AgB2-спейсер2-TM2-эндо2
в которой

AgB1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая 25 кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует эндодомен первого CAR;

30 коэхспр представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая делает возможной коэкспрессию обоих CAR

AgB2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая 35 кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

эндо2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует эндодомен второго CAR;

40 эта последовательность нуклеиновой кислоты, когда ее экспрессируют в Т-клетке, кодирует полипептид, который расщепляют в сайте расщепления так, что на поверхности Т-клеток совместно экспрессируют первый и второй CAR.

19. Последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с п. 18, в которой коэхспр кодирует последовательность, которая содержит саморасщепляющийся пептид.

45 20. Последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с п. 18 или 19, в которой альтернативные кодоны используют в областях последовательности, которая кодирует одинаковые или схожие аминокислотные последовательности, во избежание гомологичной рекомбинации.

21. Набор, который содержит

(i) первую последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует первый химерный антигенный рецептор (CAR), как определено в любом из пп. с 1 до 16, эта последовательность нуклеиновой кислоты имеет следующую структуру:

5 AgB1-спейсер1-TM1-эндо1

в которой

AgB1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

10 спейсер1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует эндодомен первого CAR; и

15 (ii) вторую последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует второй химерный антигенный рецептор (CAR), как определено в любом из пп. с 1 до 16, эта последовательность нуклеиновой кислоты имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2

19 AgB2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

25 эндо2 представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты, которая кодирует эндодомен второго CAR.

22. Набор, который содержит: первый вектор, который содержит первую последовательность нуклеиновой кислоты, как определено в п. 21; и второй вектор, который содержит первую последовательность нуклеиновой кислоты, как определено в п. 21.

23. Набор в соответствии с п. 22, в котором векторы представляют собой интегрирующие вирусные векторы или транспозоны.

24. Вектор, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из пп. с 17 до 20.

35 25. Ретровирусный вектор или лентивирусный вектор или транспозон в соответствии с п. 24.

26. Способ получения Т-клетки в соответствии с любым из пп. с 1 до 16, который включает стадию введения: последовательности нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из пп. с 17 до 20; первой последовательности нуклеиновой кислоты и второй

40 последовательности нуклеиновой кислоты, как определено в п. 21; и/или первого вектора и второго вектора, как определено в п. 22, или вектора в соответствии с п. 24 или 25 в Т-клетку.

27. Способ в соответствии с п. 24, в котором Т-клетка происходит из образца, выделенного у субъекта.

45 28. Фармацевтическая композиция, которая содержит множество Т-клеток в соответствии с любым из пп. с 1 до 16.

29. Способ лечения и/или предотвращения заболевания, который включает стадию введения фармацевтической композиции в соответствии с п. 28 субъекту.

30. Способ в соответствии с п. 29, который включает следующие стадии:

(i) выделение образца, содержащего Т-клетки, у субъекта;

(ii) трансдукция или трансфекция Т-клеток с использованием: последовательности нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из пп. с 17 до 20; первой

5 последовательности нуклеиновой кислоты и второй последовательности нуклеиновой кислоты, как определено в п. 21; первого вектора и второго вектора, как определено в п. 22 или 23, или вектора в соответствии с п. 24 или 25; и

(iii) введение Т-клеток из (ii) субъекту.

31. Способ в соответствии с п. 29 или 30, в котором заболевание представляет собой

10 злокачественную опухоль.

32. Фармацевтическая композиция в соответствии с п. 28 для использования в лечении и/или предотвращении заболевания.

33. Использование Т-клетки в соответствии с любым из пп. с 1 до 16 при изготовлении лекарственного средства для лечения и/или предотвращения заболевания.

15 ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ (CAR)

CAR, которые схематически представлены на фиг. 1, представляют собой химерные трансмембранные белки I типа, которые соединяют внеклеточный антигенраспознающий домен (связывающее средство) с внутриклеточным сигнальным доменом (эндодомен).

20 Связывающее средство типично представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), полученный из моноклонального антитела (mAb), но оно может быть основано на других форматах, которые содержат антителоподобный антигенсвязывающий участок. Спейсерный домен обычно необходим для того, чтобы отделять связывающее средство от мембраны и сделать возможной его подходящую 25 ориентацию. Обыкновенный используемый спейсерный домен представляет собой Fc из IgG1. Может быть достаточно более компактного спейсера, например, «стебля» из CD8 α и даже просто только шарнира IgG1, в зависимости от антигена. Трансмембранный домен за jakiраивает белок в клеточной мембране и соединяет спейсер с эндодоменом.

30 Ранние конструкции CAR содержали эндодомены, полученные из внутриклеточных частей или γ цепи из Fc ϵ R1 или CD3 ξ . Следовательно, эти рецепторы первого поколения передавали иммунологический сигнал 1, которого было достаточно для того, чтобы запускать уничтожение Т-клетками когнитивных клеток-мишеней, но не достаточно для того, чтобы полностью активировать Т-клетку для пролиферации и выживания. Чтобы преодолеть это ограничение, сконструированы составные эндодомены: слияние

35 внутриклеточной части из костимуляторной молекулы Т-клетки с таковой из CD3 ξ дает рецепторы второго поколения, которые могут передавать активирующий и костимуляторный сигнал одновременно после распознавания антигена. Наиболее широко используют костимуляторный домен из CD28. Это обеспечивает наиболее сильный костимуляторный сигнал, а именно, иммунологический сигнал 2, который

40 запускает Т-клеточную пролиферацию. Также описаны некоторые рецепторы, которые содержат эндодомены семейства рецепторов TNF, такие как близкородственные OX40 и 41BB, которые передают сигналы выживания. Сейчас даже описаны еще более сильные CAR третьего поколения, которые имеют эндодомены, способные передавать сигналы активации, пролиферации и выживания.

45 Кодирующие CAR нуклеиновые кислоты можно переносить в Т-клетки с использованием, например, ретровирусных векторов. Можно использовать лентивирусные векторы. Таким образом, большое число Т-клеток со специфичностью к злокачественной опухоли можно создавать для адоптивного переноса клеток. Когда

CAR связывает антиген-мишень, это ведет к передаче активирующего сигнала в Т-клетку, на которой он экспрессирован. Таким образом CAR определяет специфичность и цитотоксичность Т-клетки в направлении опухолевых клеток, которые экспрессируют антиген-мишень.

5 Первый аспект изобретения относится к Т-клетке, которая совместно экспрессирует первый CAR и второй CAR так, что Т-клетка может распознавать желаемый паттерн экспрессии на клетках-мишениях наподобие логического элемента, как подробно изложено в таблицах истинности: таблица 1, 2 и 3.

И первый и второй (и необязательно последующие) CAR содержат:

- 10 (i) антигена связывающий домен;
 (ii) спейсер;
 (iii) трансмембранный домен; и
 (iii) внутриклеточный домен.

15 Таблица 1
Таблица истинности для CAR логического элемента ИЛИ

Антиген А	Антиген В	Ответ
Отсутствует	Отсутствует	Нет активации
Отсутствует	Присутствует	Активация
Присутствует	Отсутствует	Активация
Присутствует	Присутствует	Активация

20

25 Таблица 2
Таблица истинности для CAR логического элемента И

Антиген А	Антиген В	Ответ
Отсутствует	Отсутствует	Нет активации
Отсутствует	Присутствует	Нет активации
Присутствует	Отсутствует	Нет активации
Присутствует	Присутствует	Активация

20

30 Таблица 3
Таблица истинности для CAR логического элемента И НЕ

Антиген А	Антиген В	Ответ
Отсутствует	Отсутствует	Нет активации
Отсутствует	Присутствует	Нет активации
Присутствует	Отсутствует	Активация
Присутствует	Присутствует	Нет активации

30

35 Первый и второй CAR Т-клетки по настоящему изобретению можно получать в виде полипептида, который содержит оба CAR, вместе с сайтом расщепления.

В SEQ ID № с 1 до 5 приведены примеры таких полипептидов, каждый из которых содержит два CAR. Следовательно, CAR может содержать одну или другую часть следующих аминокислотных последовательностей, которые соответствуют одному CAR.

40

SEQ ID № 1 представляет собой CAR логический элемент ИЛИ, который распознает CD19 ИЛИ CD33

SEQ ID № 2 представляет собой CAR логический элемент И, который распознает CD19 И CD33 с использованием фосфатазы CD148

45

SEQ ID № 3 представляет собой альтернативную реализацию CAR логического элемента И, который распознает CD19 И CD33, который использует фосфатазу CD45

SEQ ID № 4 представляет собой CAR логический элемент И НЕ, который распознает CD19 И НЕ CD33 на основании фосфатазы PTPN6

SEQ ID № 5 представляет собой альтернативную реализацию CAR логического

элемента И НЕ, который распознает CD19 И НЕ CD33 и основан на ITIM-содержащем эндодомене из LAIR1

SEQ ID № 6 представляет собой дополнительную альтернативную реализацию CAR логического элемента И НЕ, который распознает CD19 И НЕ CD33 и рекрутирует

5 слитный белок PTPN6-CD148 в эндодомене, содержащий ITIM.

SEQ ID № 1

MSLPVTALLPLALLHAARPDIQMTQTTSSLASLGDRVТИSCRASQDISKYLNWYQ
QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
GGGTKLEITKAGGGGGGGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV

10 SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
PEACRPAAGGAHVTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
ADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLKDERRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAEGRGSL

15 LTCGDVEENPGPMAVPTQVLGLLLWLTNDARCDIQMTQSPSSLASAVGDRVТИCRASE
DIYFNLWVYQQKPGKAPKLLIYDTNRLADGVPSRFSGSGSGTQYTLTISLQPEDFATYY
CQHYKNYPLTFQGQGTKLEIKRSGGGGGGGGGGGGGSRSEVQLVESGGLVQP
GGSLRLSCAASGFTLSNYGMHWIRQAPGKGLEWVSSISLNGSTYYRDSVKGRFTISRD
NAKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQDAYTGGYFDYWGQGTLTVSSMDPAEPKSP

20 DKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
AKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPNSDIAWESENQPNENYKTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNHTQKSLSLSPGKKDPFWVL
VVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRSRVKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYD

25 VLDKERRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID № 2

MSLPVTALLPLALLHAARPDIQMTQTTSSLASLGDRVТИSCRASQDISKYLNWYQ
QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF

30 GGGTKLEITKAGGGGGGGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
PEACRPAAGGAHVTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
ADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYD

35 KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAEGRGSL
LTCGDVEENPGPMAVPTQVLGLLLWLTNDARCDIQMTQSPSSLASAVGDRVТИCRASE
DIYFNLWVYQQKPGKAPKLLIYDTNRLADGVPSRFSGSGSGTQYTLTISLQPEDFATYY
CQHYKNYPLTFQGQGTKLEIKRSGGGGGGGGGGGGGSRSEVQLVESGGLVQP
GGSLRLSCAASGFTLSNYGMHWIRQAPGKGLEWVSSISLNGSTYYRDSVKGRFTISRD

40 NAKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQDAYTGGYFDYWGQGTLTVSSMDPAEPKSP
DKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
AKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPNSDIAWESENQPNENYKTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVHEALHNHTQKSLSLSPGKKDPKAVFG

45 CIFGALIVTVGGFIFWRKKRKDAKNNEVSFSQIKPKKSKLIRVENFEAYFKKQQADSNC
GFAEEYEDLKLVGISQPKYAAELAENRGKNRYNNVLPYDISRVKLSVQTHSTDYINAN
YMPGYHSKKDFIATQGPLPNTLKDFWRMVWEKNVYAIIMLTCKVEQGRTKCEEWPS
KQAQDYGDITVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSESHPLRFHFTSWPDHGVPDTDLL

INFRYLVRDYMKQSPPESPILVHCSAGVGRTGTFIADRLIYQIENENTVDVYGVYDLRM
 HRPLMVQTEDQYVFLNQCVL DIVRSQKDSKVDLIYQNTTAMTIYENLAPVTTFGKTNG
 YIA

SEQ ID № 3

5 MSLPVTA LLLPL ALLLHAARPDIQM TQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQ
 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
 GGGTKLEITKAGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 SLPDYGVSWIRQPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKD NSKSQVFLKMNSLQ
 TDDTAIYYCAKHYGGSYAMDYWGQGTSVTSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
 10 PEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIFWVLVVGGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 ADAPAYQQQCNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQLP PRAEGRGSL
 LTCGDVEENPGPMAVPTQVLG LLLWLT DARCDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASE
 DIYFNLWYQQKPGKAPKLLIYDTNRLADGVPSRFS GSGSGTQYTLTISLQPEDFATYY
 15 CQHYK NYPLT FQG QTKLEIKRSGGGSGGGSGGGSGGGSRSEVQLVESGGGLVQP
 GGSLRLSCAASGFTLSNYGMHWIRQAPGKGLEWVSSISLNGSTYYRDSVKGRFTISRD
 NAKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQDAYTGGYFDYWGQGTLTVSSMDPAEPKSP
 DKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFP PKD TLMIA RTPEVTCVV DVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHN A KTKPREEQYN STYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISK
 20 AKGQPREPQVYTLPPS RDELT KNQVSLT CLVKGFYPSDIAWESEN GQ PENNYK TTPV
 LDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKALIA
 FLAFLII VTSIA LLV VLYKIYDLHKKRSCNLDEQ QELVERDDEKQLMNVEPIHADILLE TY
 KRKIAD EGRFLA EFQ SI PRVFS KFPIKE ARKPFNQNKNRYVDILPYDYNR VELSEINGDA
 GS NYIN ASYID GFKE PRKYIAA QG PRD ETVDD FW RM IWE QKAT VIVM VTRCE GNR NK
 25 CAEYWP SMEEG TRAF GDVV V KINQ HKR CPD YII QKL NIVNK KEK ATGREV THIQ FT SWP
 DHGP PEDPH LLLK LRR RVNA FSN FF SGPIV VHC SAGVG RTG TYI GID AMLEG LEA EN KV
 DVYGYV VKL RR QRCL MVQ VEA QYI LIH QAL VEY NQF GETEV NLSELHPY LH NM KK RD
 PPSE PSPL EAFQ RLPS YRS WRTQ HIGN QEE NKS KNR NSN VIP YDYN RVPL KHELEM SK
 SEH DSDE S DDD SDSE E PSK YIN ASFIM SYWKPE VMIAA QGPL KETIGDFWQM IFQR KV
 30 KVIVMLTELKHGDQEICAQYWGE GKQTYGDIEV DLKD TD KSS TYTL RVFELRHS KRD
 SRTVYQYQYT NWSV EQLPAEPK ELISM IQVVKQ KLPQ KNSSEG NKKH STPLI HCR DG
 SQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVK ALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVI ASTY PAQ
 NGQVKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGP
 EHSVNGPASP ALNQGS

35 SEQ ID № 4

MSLPVTA LLLPL ALLLHAARPDIQM TQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQ
 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFS GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
 GGGTKLEITKAGGGGSGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 SLPDYGVSWIRQPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKD NSKSQVFLKMNSLQ
 TDDTAIYYCAKHYGGSYAMDYWGQGTSVTSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGA VHTRGLDFACDIFWVLVVGGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 ADAPAYQQQCNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQLP PRAEGRGSL
 LTCGDVEENPGPMAVPTQVLG LLLWLT DARCDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASE
 DIYFNLWYQQKPGKAPKLLIYDTNRLADGVPSRFS GSGSGTQYTLTISLQPEDFATYY
 CQHYK NYPLT FQG QTKLEIKRSGGGSGGGSGGGSGGGSRSEVQLVESGGGLVQP
 GGSLRLSCAASGFTLSNYGMHWIRQAPGKGLEWVSSISLNGSTYYRDSVKGRFTISRD
 NAKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQDAYTGGYFDYWGQGTLTVSSMDPATT K P

VL RTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDIYWAPLAGICVALLSLIITLIC
 YHRSRKRVCKSGGSFWEEFESLQKQEVKNLHQRLEGQRPENKGKNRYKNILPDFHSR
 VILQGRDSNIPGSDYINANYIKNQLLGPDENAKTYIASQGCLEATVNDFWQMAWQENS
 RVIVMTTREVEKGRNKCPYWPVEGMQRAYGPYSVTNCGEHTTEYKLRTLQVSPLD
 5 NGDLIREIWHYQYLSWPDHGVPSEPGVLSFLDQINQRQESLPHAGPIIVHCSAGIGRTG
 TIIVIDMLMENISTKGLDCDIDIQKTIQMVRARSGMVQTEAQYKFIYVAIAQFIETTKK
 KL

SEQ ID № 5

MSLPVTALLPLALLHAARPDIQMTQTSSLASLGDRTISCRAQSQDISKYLNWYQ
 10 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
 GGGTKLEITKAGGGGGGGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
 TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSVTSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAHVTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 15 ADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAEGRGSL
 LTCGDVEENPGPMAVPTQVLGLLLWLT DARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASE
 DIYFNLWYQQKPGKAPKLLIYDTNRLADGVPSRFSGSGSGTQYTLTISLQPEDFATYY
 CQHYKNYPLTFQGQTKLEIKRGSGGGGGGGGGGGGGSRSEVQLVESGGLVQP
 20 GGSLRLSCAASGFTLSNYGMHWIRQAPGKGLEWVSSISLNGGSTYYRDSVKGRFTISRD
 NAKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQDAYTGGYFDYWGQGTLTVSSMDPATTTP
 VL RTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDILIGVSVVFLCLLLVLFCLHR
 QNQIKQGPPRSKDEEQKPQQRPDLA DVLERADKATVNGLPEKDRETDTSALAAGSS
 QEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKPMAESITYAAVARH

SEQ ID № 6

MSLPVTALLPLALLHAARPDIQMTQTSSLASLGDRTISCRAQSQDISKYLNWYQ
 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
 GGGTKLEITKAGGGGGGGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
 30 TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSVTSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAHVTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 ADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAEGRGSL
 LTCGDVEENPGPMAVPTQVLGLLLWLT DARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASE
 35 DIYFNLWYQQKPGKAPKLLIYDTNRLADGVPSRFSGSGSGTQYTLTISLQPEDFATYY
 CQHYKNYPLTFQGQTKLEIKRGSGGGGGGGGGGGGGSRSEVQLVESGGLVQP
 GGSLRLSCAASGFTLSNYGMHWIRQAPGKGLEWVSSISLNGGSTYYRDSVKGRFTISRD
 NAKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAQDAYTGGYFDYWGQGTLTVSSMDPATTTP
 VL RTPSPVHPTGTSQPQRPEDCRPRGSVKGTGLDFACDILIGVSVVFLCLLLVLFCLHR
 40 QNQIKQGPPRSKDEEQKPQQRPDLA DVLERADKATVNGLPEKDRETDTSALAAGSS
 QEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKPMAESITYAAVARHRAEGRGSLLCGDVEE
 NPGPWYHGHMSGQAETLLQAKGEPTFLVRESLSQPGDFVLSVLSQPKAGPGSPLR
 VTHIKVMCEGGRTVGGLETFDSLTDLVEHFKKTGIEEASGAFVYLRQPYSGGGGSFEA
 YFKKQQQADSNCGFAEEYEDLKLVGISQPKYAAELAENRGKNRYNNVLPYDISRVKLSV
 45 QTHSTDYINANYMPGYHSKKDFIATQGPLNTLKDFWRMVWEKNVYAIIMLKCVE
 QGRTKCEEYWPSKQAQDYGDIVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSESHPLRQFHFTS
 WPDHGVPDTDLLINFYLVRDYMKQSPPEPILVHCSAGVGRGTFTAIDRLIYQIENEN
 TVDVYGVYDLRMHRPLMVQTEDQYVFLNQCVL DIVRSQKDSKVDLIYQNTTAMTIYE

NLAPVTTFGKTNGYIASGS

CAR может содержать вариант CAR-кодирующей части последовательности, представленной в качестве SEQ ID № 1, 2, 3, 4, 5 или 6, которая имеет по меньшей мере 80, 85, 90, 95, 98 или 99% идентичность последовательностей, при условии, что вариант последовательности представляет собой CAR, который обладает необходимыми свойствами.

Способы выравнивания последовательностей хорошо известны в данной области, и их реализуют с использованием подходящих программ для выравнивания. Процент идентичности последовательностей относится к процентной доле остатков аминокислот или нуклеотид, которые идентичны в двум последовательностях, когда они выровнены оптимально. Гомологию или идентичность нуклеотидных и белковых последовательностей можно определять с использованием стандартных алгоритмов, таких как программа BLAST (Basic Local Alignment Search Tool в National Center for Biotechnology Information) с параметрами по умолчанию, которая общедоступна на <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>. Другие алгоритмы для определения идентичности или гомологии последовательностей включают: LALIGN (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/lalign/> и <http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/lalign/nucleotide.html>), AMAS (Analysis of Multiply Aligned Sequences, <http://www.compbio.dundee.ac.uk/Software/Amas/amas.html>), FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/ssss/fasta/>), Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>), SIM (<http://web.expasy.org/sim/>) и EMBOSS Needle (http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/nucleotide.html).

CAR ЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ ИЛИ

В этом варианте осуществления антигенсвязывающие домены первого и второго CAR по настоящему изобретению связываются с различными антигенами, и оба CAR содержат активирующий эндодомен. Оба CAR имеют различные спайсерные домены для того, чтобы предотвращать образование перекрестных пар из двух различных рецепторов. Таким образом, можно конструировать Т-клетки для того, чтобы активация происходила при распознавании любого или обоих антигенов. Это можно использовать в области онкологии, как показан в гипотезе Goldie-Coldman: одиночное направленное воздействие на один антиген может вести к ускользанию опухоли посредством модуляции указанного антигена из-за высокой частоты мутаций, свойственной большинству злокачественных опухолей. Посредством одновременного направленного воздействия на два антигена вероятность такого ускользания снижается экспоненциально.

Известны различные опухоль-ассоциированные антигены, как показано в следующей таблице 4. Для данного заболевания первый CAR и второй CAR может связываться с двумя различными ТАА, связанными с этим заболеванием. Таким образом, предотвращено ускользание опухоли посредством модуляции одного антигена, поскольку на второй антиген также воздействуют направленно. Например, при направленном воздействии на В-клеточное злокачественное новообразование, можно одновременно направленно воздействовать на CD19 и CD20. В этом варианте осуществления важно, что два CAR не образуют гетеродимеров.

ТАБЛИЦА 4

Тип злокачественно опухоли	ТАА
Диффузная В-крупноклеточная лимфома	CD19, CD20
Злокачественная опухоль молочной железы	ErbB2, MUC1
AML	CD13, CD33
Нейробластома	GD2, NCAM
B-CLL	CD19, CD52
Злокачественная опухоль толстой кишки	Фолатсвязывающий белок, CA-125

МОДЕЛЬ КИНЕТИЧЕСКОЙ СЕГРЕГАЦИИ

Последующее образование пар CAR для создания логического элемента И и логического элемента И НЕ основано на модели кинетической сегрегации (KS) активации Т-клеток. Она представляет собой функциональную модель, подтвержденную

- 5 экспериментальными данными, которая объясняет, как распознавание антигена Т-клеточным рецептором превращается в исходящие сигналы активации. В кратком изложении: в основном состоянии сигнальные компоненты на мемbrane T-клетки находятся в динамическом гомеостазе, за счет чего дефосфорилированные ITAM предпочтительнее фосфорилированных ITAM. Это обусловлено более высокой
- 10 активностью трансмембранный CD45/фосфатазы CD148, чем у киназ, связанных с мембраной, таких как lck. Когда Т-клетка связывается с клеткой-мишенью через распознавание когнатного антигена Т-клеточным рецептором (или CAR), образуются плотные иммунологические синапсы. Такое тесное расположение Т-клетки и мембран-мишени исключает CD45/CD148 из-за их больших эктодоменов, которые не могут
- 15 поместиться в синапсе. Сегрегация высокой концентрации ассоциированных с Т-клеточным рецептором ITAM и киназ в синапсе, в отсутствие фосфатазы, ведет к состоянию, в котором предпочтительны фосфорилированные ITAM. ZAP70 распознает порог фосфорилированных ITAM и распространяет сигнал активации Т-клеток. Это глубокое понимание активации Т-клеток используют в настоящем изобретении. В
- 20 частности, изобретение основано на этом понимании того, как эктодомены с различной длиной и/или объемом и/или зарядом и/или конфигурацией и/или гликозилированием ведут к дифференциальной сегрегации при формировании синапса.

CAR ЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ И

В этом варианте осуществления один CAR содержит активирующий эндодомен и

- 25 один CAR содержит ингибирующий эндодомен, посредством чего ингибирующий CAR конститутивно ингибирует первый активирующий CAR, но при распознавании своего когнатного антигена, снимает свое ингибирование активирующего CAR. Таким образом, можно конструировать Т-клетку для запуска, только если клетка-мишень экспрессирует оба когнатных антигена. Этого поведения достигают с помощью активирующего CAR,
- 30 который содержит активирующий эндодомен, содержащий ITAM-домены, например эндодомен CD3 дзета, и ингибирующего CAR, который содержит эндодомен из фосфатазы, способный дефосфорилировать ITAM (например, CD45 или CD148). Самое главное, спейсерные домены обоих CAR значительно отличаются по размеру и/или геометрической форме и/или заряду и т.д. Когда лигирован только активирующий CAR,
- 35 ингибирующий CAR находится в растворе на поверхности Т-клетки и может диффундировать в и из синапса, ингибируя активирующий CAR. Когда лигированы оба CAR, из-за различий в свойствах спейсера, активирующий и ингибирующий CAR дифференциально сегрегированы, что позволяет активирующему CAR запускать активацию Т-клеток без пространственного затруднения со стороны ингибирующего CAR.

Это обладает существенной полезностью в области терапии злокачественных опухолей. В настоящее время иммунотерапия типично направлена на один антиген. Большинство злокачественных опухолей нельзя отличить от нормальных тканей на основании одного антигена. Таким образом, имеет место существенная токсичность

- 45 «в мишени вне опухоли», за счет которой при терапии происходит повреждение нормальных тканей. Например, при направленном воздействии на CD20 для того, чтобы лечить В-клеточные лимфомы ритуксимабом, происходит истощение всего компартмента нормальных В-клеток. Например, при направленном воздействии на

CD52 для того, чтобы лечить хронический лимфоцитарный лейкоз, происходит истощение всего лимфоидного компартмента. Например, при направленном воздействии на CD33 для того, чтобы лечить острый миелолейкоз, происходит истощение всего миелоидного компартмента и т.д. С помощью ограничения активности парой антигенов можно разработать значительно более точное направленное воздействие и, таким образом, менее токсичную терапию. Практическим примером является направленное воздействие на CLL, который экспрессирует и CD5 и CD19. Только небольшая доля нормальных В-клеток экспрессирует оба антигена, так что токсичность вне мишени при направленном воздействии на оба антигена с использованием логического элемента

10 И по существу меньше, чем индивидуальное направленное воздействие на каждый антиген.

Конструкция по настоящему изобретению представляет собой существенное усовершенствование предыдущей реализации, как описано у Wilkie et al. ((2012). J. Clin. Immunol. 32, 1059-1070) и затем протестировано *in vivo* (Kloss et al (2013) Nat. Biotechnol. 31, 71-75). В этой реализации первый CAR содержит активирующий эндодомен, а второй - костимуляторный домен. Таким образом, Т-клетка получает только активирующий и костимуляторный сигнал, когда присутствуют оба антигена. Однако Т-клетка все же будет активировать в присутствии только первого антигена, что ведет к возможной токсичности вне мишени. Кроме того, реализация по настоящему изобретению допускает множественные составные сцепленные логические элементы, посредством которых клетка может интерпретировать комплексный паттерн антигенов.

ТАБЛИЦА 5

Тип злокачественной опухоли	Антигены
Хронический лимфоцитарный лейкоз	CD5, CD19
Нейробластома	ALK, GD2
Глиома	EGFR, виментин
Множественная миелома	BCMA, CD138
Почечноклеточная карцинома	Карбоангидраза IX, G250
T-ALL	CD2, N-кадгерин
Злокачественная опухоль предстательной железы	PSMA, гепсин (или другие)

CAR ЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ И НЕ

В этом варианте осуществления один CAR содержит активирующий эндодомен и один CAR содержит ингибирующий эндодомен так, что этот ингибирующий CAR активен только когда он распознает свой когнатный антиген. Таким образом, Т-клетка, сконструированная таким образом, активируется в ответ на присутствие только первого антигена, но не активируется, когда присутствуют оба антигена. Это изобретение реализовано с помощью ингибирующих CAR со спейсером, который может быть локализован совместно с первым CAR, но или фосфатазная активность ингибирующего CAR не должна быть настолько высокой, чтобы он ингибирировал в растворе, или ингибирующий эндодомен фактически рекрутирует фосфатазу только когда ингибирующий CAR распознает свою когнатную мишень. В настоящем документе такие эндодомены называют «включаемыми лигированием» или полуингибирующими.

Это изобретение полезно для уточнения направленного воздействия, когда опухоль можно отличать от нормальной ткани по присутствию опухоль-ассоциированного антигена и утрате антигена, экспрессированного на нормальной ткани. Логический элемент И НЕ обладает существенной полезностью в области онкологии, поскольку он делает возможным направленное воздействие на антиген, который экспрессирует нормальная клетка, эта нормальная клетка также экспрессирует антиген,

распознаваемый с помощью CAR, который содержит активирующий эндодомен. Примером такого антигена является CD33, который экспрессируют нормальные стволовые клетки и клетки острого миелолейкоза (AML). CD34 экспрессируют стволовые клетки, но типично не экспрессируют клетки AML. Т-клетка, распознавающая CD33 И НЕ CD34, будет вести к разрушению клеток лейкоза, но беречь нормальные стволовые клетки.

Возможные пары антигенов для использования с логическими элементами И НЕ приведены в таблице 6.

ТАБЛИЦА 6			
Заболевание	ТAA	Нормальная клетка, которая экспрессирует ТAA	Антиген, экспрессируемый нормальной клеткой, но не клеткой злокачественной опухоли
AML	CD33	Стволовые клетки	CD34
Миелома	BCMA	Дендритные клетки	CD1c
B-CLL	CD160	Естественные киллерные клетки	CD56
Злокачественная опухоль предстательной железы	PSMA	Нервная ткань	NCAM
Злокачественная опухоль кишечника	A33	Нормальный кишечник	I класс HLA

СОСТАВНЫЕ ЛОГИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Модель кинетической сегрегации с вышеуказанными компонентами допускает создание составных логических элементов, например, Т-клетку, которая запускается в ответ на паттерны из больше чем двух антигенов-мишеней. Например, возможно создать Т-клетку, которая запускается только когда присутствуют три антигена (A И B И C). Здесь клетка экспрессирует три CAR, каждый распознает антигены A, B и C. Один CAR является возбуждающим, а два являются ингибирующими, где каждый CAR имеет спайсерные домены, которые ведут к дифференциальной сегрегации. Только когда все три лигированы, Т-клетка будет активна. Дополнительный пример: (A ИЛИ B) И C: здесь CAR, распознающие антигены A и B, являются активирующими и имеют спайсеры которые могут быть совместно локализованы, тогда как CAR, распознающий антиген C, является ингибирующим и имеет спайсер, результатом чего является другая совместная сегрегация. Дополнительный пример (A И НЕ B) И C: здесь CAR против антигена A имеет активирующий эндодомен и совместно локализован с CAR против антигена B, который имеет эндодомен, ингибирующий при определенных условиях. CAR против антигена C имеет спайсер, который сегрегируется отлично от A или B, и является ингибирующим. Фактически, с использованием этих простых компонентов по изобретению и любого числа CAR и спайсеров можно программировать даже более сложную булеву логику.

СИГНАЛЬНЫЙ ПЕПТИД

CAR Т-клетки по настоящему изобретению могут содержать сигнальный пептид с тем, чтобы когда CAR экспрессируют внутри клетки, такой как Т-клетка, направлять появляющийся белок на эндоплазматический ретикулум и впоследствии на клеточную поверхность, где он будет экспрессирован.

Сердцевина сигнального пептида может содержать длинный участок гидрофобных аминокислот, который имеет склонность к формированию одной альфа-спиралы.

Сигнальный пептид может начинаться коротким положительно заряженным участком аминокислот, который помогает укреплять надлежащую топологию полипептида во время транслокации. На конце сигнального пептида типично имеет место участок аминокислот, которые распознает и отщепляет сигнальная пептидаза. Сигнальная пептидаза может осуществлять отщепление или во время транслокации или по ее

завершении, чтобы создавать свободный сигнальный пептид и зрелый белок. После этого специфичные протеазы расщепляют свободные сигнальные пептиды.

Сигнальный пептид может находиться на амино-конце молекулы.

Сигнальный пептид может содержать SEQ ID № 7, 8 или 9 или их вариант, который имеет 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотную мутацию (инсерцию, замену или вставку) при условии, что сигнальный пептид все еще функционирует, обеспечивая экспрессию CAR на клеточной поверхности.

SEQ ID № 7: MGTSLLCWMALCLLGADHADG

Сигнальный пептид SEQ ID № 7 является компактным и высоко эффективным.

Предсказано, что он дает расщепление приблизительно 95% после концевого глицина, давая эффективное удаление сигнальной пептидазой.

SEQ ID № 8: MSLPVTALLPLALLHAARP

Сигнальный пептид SEQ ID № 8 получают из IgG1.

SEQ ID № 9: MAVPTQVLGLLLWLTDARC

Сигнальный пептид SEQ ID № 9 получают из CD8.

Сигнальный пептид для первого CAR может иметь последовательность, отличную от сигнального пептида из второго CAR (и от третьего CAR и четвертого CAR и т. п.).

АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЙ ДОМЕН

Антигенсвязывающий домен представляет собой часть CAR, которая распознает

антиген. Многие антигенсвязывающие домены известны в данной области, в том числе те, которые основаны на антигенсвязывающем участке антитела, миметике антитела и Т-клеточных рецепторах. Например, антигенсвязывающий домен может содержать: одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), полученный из моноклонального антитела; природный лиганд антигена-мишени; пептид с достаточной аффинностью к мишени; однодоменное антитело; искусственное одиночное связывающее средство, такое как Dargipin (сконструированный белок с анкириновым повтором); или одна цепь, полученная из Т-клеточного рецептора.

Антигенсвязывающий домен может содержать домен, который не основан на антигенсвязывающем участке антитела. Например, антигенсвязывающий домен может содержать домен на основании белка/пептида, который представляет собой растворимый лиганд для рецептора клеточной поверхности опухоли (например, растворимый пептид, такой как цитокин или хемокин); или внеклеточный домен лиганда или рецептора, зажоренного в мембране, для которого вторая часть пары связывания экспрессирована на опухолевой клетке.

Примеры с 11 до 13 относятся к CAR, который связывает BCMA, в котором антигенсвязывающий домен содержит APRIL, лиганд для BCMA.

Антигенсвязывающий домен может быть основан на природном лиганде антигена.

Антигенсвязывающий домен может содержать аффинный пептид из комбинаторной библиотеки или сконструированный de novo аффинный белок/пептид.

СПЕЙСЕРНЫЙ ДОМЕН

CAR содержит спейсерную последовательность для соединения антигенсвязывающего домена с трансмембранным доменом и пространственного отделения антигенсвязывающего домен от эндодомена. Гибкий спейсер позволяет антигенсвязывающему домену ориентироваться в различных направлениях для того, чтобы содействовать связыванию.

В Т-клетке по настоящему изобретению первый и второй CAR содержат различные спейсерные молекулы. Например, спейсерная последовательность, например, может содержать Fc-область IgG1, шарнир IgG1 или «стебель» CD8 человека или «стебель»

CD8 мыши. Спейсер альтернативно может содержать альтернативную линкерную последовательность, которая имеет схожую длину и/или свойства разнесения доменов, как у Fc-области IgG1, шарнира IgG1 или «стебля» CD8. Спейсер IgG1 человека можно изменять для того, чтобы удалять мотивы связывания Fc.

5 Примеры аминокислотных последовательностей для этих спейсеров приведены ниже:
SEQ ID № 10 (шарнир-CH₂CH₃ из IgG1 человека)

AEPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIAARTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPEN
10 NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
KD

SEQ ID № 11 («стебель» CD8 человека):

TTTPAPRPPPTPAFTIASQPLSLRPEACRPAAGGAHVTRGLDFACDI

SEQ ID № 12 (шарнир IgG1 человека):

15 AEPKSPDKTHTCPPCPKDPK

SEQ ID № 13 (эктодомен CD2)

KEITNALETWGALGQDINLDIPSFQMSDDIDDIKWEKTSDDKKKIAQFRKEKETFKEKD
TYKLFKNGLTLKIKHLKTDQDIYKVSIYDTKGKNVLEKIFDLKIQERVSXPKISWTCINT
TLTCEVMNGTDPELNLYQDGKHLKLSQRVITHKWTTSLSAFKCTAGNKVSKESSVEP
20 VSCPEKGLD

SEQ ID № 14 (эктодомен CD34)

SLDNNGTATPELPTQGTFSNVSTNVSYQETTPSTLGSTSLLHPVSQHGNEATTNITETT
VKFTSTSVTSVYGNNTSSVQSQTSVISTVFTTPANVSTPETTLKPSLSPGNVSDLSTTSTS
LATSPTRPYTSSSPILSDIKAIEIKCGIREVKLTQGICLEQNKTSSCAEFKKDRGEGLARVL
25 CGEEQADADAGAQVCSLLAQSEVRPQCCLLVLANRTEISSKLQLMKKHQSDLKKLG
LDFTEQDVASHQSQSQKT

Поскольку CAR типично представляют собой гомодимеры (см. фиг. 1а), перекрестное образование пар может вести к гетеродимерному химерному антигенному рецептору. Это нежелательно по различным причинам, например: (1) эпитоп может не быть на 30 том же «уровне» на клетке-мишени, так что перекрестно-спаренный CAR может быть способен только связываться с одним антигеном; (2) VH и VL из двух различных scFv могут меняться местами и оказываться неспособными распознавать мишень или, хуже того, распознавать неожиданный и непредсказуемый антиген. Для логического элемента «ИЛИ» и логического элемента «И НЕ» спейсер первого CAR достаточно отличен от 35 спейсера второго CAR во избежание образования перекрестных пар. Аминокислотная последовательность первого спейсера может иметь меньше чем 50%, 40%, 30% или 20% идентичности со вторым спейсером на аминокислотном уровне.

В других аспектах изобретения (например, логический элемент И) важно, что спейсер первого CAR имеет отличающуюся длину и/или заряд и/или геометрическую форму и/ 40 или конфигурацию и/или гликозилирование, так что когда первый и второй CAR связывают свой антиген-мишень, различия в заряде или размерах спейсера ведет к пространственному разделению CAR двух типов на различные части мембранны, чтобы приводить к активации, как предсказано с помощью модели кинетического разделения. В этих аспектах отличающуюся длину, геометрическую форму и/или конфигурацию 45 спейсеров осторожно выбирают, принимая во внимание размер и связывающий эпитоп на антигене-мишени для того, чтобы сделать возможным дифференциальную сегрегацию при распознавании когнатной мишени. Например, предположительно шарнир IgG1, «стебель» CD8, Fc из IgG1, эктодомен CD34, эктодомен CD45 способны к

дифференциальной сегрегации.

Примеры пар спейсеров, которые способны к дифференциальной сегрегации и, следовательно, пригодны для использования с логическим элементом И, представлены в следующей таблице:

	Спейсер стимулирующего CAR	Спейсер ингибирующего CAR
5	CD8STK человека	Шарнир-CH2CH3 из IgG человека
	Эктодомен CD3z человека	Шарнир-CH2CH3 из IgG человека
	Шарнир IgG человека	Шарнир-CH2CH3 из IgG человека
	CD28STK человека	Шарнир-CH2CH3 из IgG человека
10	CD8STK человека	Шарнир-CH2CH3CD4 из IgM человека
	Эктодомен CD3z человека	Шарнир-CH2CH3CD4 из IgM человека
	Шарнир IgG человека	Шарнир-CH2CH3CD4 из IgM человека
	CD28STK человека	Шарнир-CH2CH3CD4 из IgM человека

В других аспектах изобретения (например, логический элемент И НЕ) важно, чтобы спейсер достаточно отличался для того, чтобы предотвращать образование перекрестных пар, но был достаточно схожим для совместной локализации. Можно использовать пары ортологичных спейсерных последовательностей. Примерами являются «стебли» CD8 мыши и человека или альтернативно спейсерные домены, которые являются мономерными, например, эктодомен CD2.

Примеры пар спейсеров, которые совместно локализуются и, следовательно, пригодны для использования с логическим элементом И НЕ, представлены в следующей таблице:

	Спейсер стимулирующего CAR	Спейсер ингибирующего CAR
25	CD8aSTK человека	CD8aSTK мыши
	CD28STK человека	CD8aSTK мыши
	Шарнир IgG человека	Эктодомен CD3z человека
	CD8aSTK человека	CD28STK мыши
	CD28STK человека	CD28STK мыши
	Шарнир-CH2CH3 из IgG человека	Шарнир-CH2CH3CD4 из IgM человека

30 Все указанные выше спейсерные домены формируют гомодимеры. Однако механизм не ограничен использованием гомодимерных рецепторов и будет работать с мономерными рецепторами до тех пор, пока спейсер является достаточно жестким. Примером такого спейсера является CD2 или усеченный CD22.

ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ДОМЕН

35 Трансмембранный домен представляет собой последовательность CAR, которая пронизывает мембрану.

Трансмембранный домен может представлять собой любую белковую структуру, которая термодинамически стабильна в мембране. Типично она представляет собой альфа-спираль, которая содержит несколько гидрофобных остатков. Трансмембранный 40 домен любого трансмембранного белка можно использовать для предоставления трансмембранной части по изобретению. Присутствие и размер трансмембранного домена белка могут определять специалисты в данной области с использованием алгоритма TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>). Кроме того, учитывая, что трансмембранный домен белка представляет собой относительно простую 45 структуру, т. е. полипептидная последовательность, согласно прогнозу, может формировать гидрофобную альфа-спираль достаточной длины, чтобы пронизывать мембрану, также можно использовать искусственно сконструированный ТМ домен (в US 7052906 B1 описаны синтетические трансмембранные компоненты).

Трансмембранный домен можно получать из CD28, который дает хорошую стабильность рецепторов.

АКТИВИРУЮЩИЙ ЭНДОДОМЕН

Эндодомен представляет собой передающую сигналы часть CAR. После

- 5 распознавания антигена, рецепторы образуют кластер, нативные CD45 и CD148 исключены из синапса и сигнал передается в клетку. Наиболее широко используемый эндодоменным компонентом является таковой из CD3-дзета, который содержит 3 ITAM. Он передает активационный сигнал в Т-клетку после связывания антигена. CD3-дзета может не предоставлять полностью достаточный активационный сигнал и может быть
- 10 необходима передача дополнительных костимуляторных сигналов. Например, химерный CD28 и OX40 можно использовать с CD3-дзета для того, чтобы передавать пролиферативный сигнал/сигнал выживания, или можно использовать вместе все три.

Когда Т-клетка по настоящему изобретению содержит CAR с активирующим эндодоменом, он может содержать только эндодомен CD3-дзета, эндодомен CD3-дзета с таковым из любого из CD28 или OX40 или эндодомен CD28 и OX40 и эндодомен CD3-дзета.

- 15 Любой эндодомен, который содержит мотив ITAM, в этом изобретении может действовать в качестве активационного эндодомена. Известно, что некоторые белки содержат эндодомены с одним или несколькими мотивами ITAM. Примеры таких
- 20 белков, среди прочего, включают эпсилон-цепь CD3, гамма-цепь CD3 и дельта-цепь CD3. Мотив ITAM можно легко распознавать как тирозин, отделенный от лейцина или изолейцина какими-либо двумя другими аминокислотами, дающими сигнатуру YxxL/I. Типично, но не всегда, два из этих мотивов разделены 6-8 аминокислотами в хвосте
- 25 молекулы (YxxL/Ix(6-8)YxxL/I). Таким образом, специалист в данной области может легко найти существующие белки, которые содержат один или несколько ITAM, чтобы передавать активационный сигнал. Кроме того, данный мотив является простым, и сложная вторичная структура не требуется, специалист в данной области может конструировать полипептиды, содержащие искусственные ITAM для того, чтобы
- 30 передавать активационн* сигнал (см. WO 2000063372, которая относится к синтетическим сигнальным молекулам).

Т-клеточный трансмембранный и внутриклеточный сигнальный домен (эндодомен) в CAR с активирующим эндодоменом может содержать последовательность, представленную как SEQ ID № 15, 16 или 17 или ее вариант, который имеет по меньшей мере 80% идентичности последовательностей.

- 35 SEQ ID № 15, содержащая трансмембранный домен CD28 и эндодомен CD3 Z
FWVLVVVGVLACYSLILTVAFIIFWVRRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR
REEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGK
GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID № 16, содержащая трансмембранный домен CD28 и эндодомены CD28 и CD3-дзета

FWVLVVVGVLACYSLILTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRPGPTRKHYQP
YAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM
GGKP RRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD
ALHMQALPPR

- 45 SEQ ID № 17, содержащая трансмембранный домен CD28 и эндодомены CD28, OX40 и CD3-дзета.

FWVLVVVGVLACYSLILTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRPGPTRKHYQP
YAPPRDFAAYRSRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPA

YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKDERRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMA
EAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Вариант последовательности может иметь по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% идентичности последовательностей с SEQ ID № 15, 16 или 17, при условии,

- 5 что последовательность предусматривает эффективный трансмембранный домен и эффективный внутриклеточный домен Т-клеточной сигнализации.

«ВЫКЛЮЧАЕМЫЙ ЛИГИРОВАНИЕМ» ИНГИБИРУЮЩИЙ ЭНДОДОМЕН

В варианте осуществления, указанном выше в качестве логического элемента И, один из CAR содержит ингибирующий эндодомен так, что ингибирующий CAR

- 10 ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR в отсутствие лигирования ингибирующего CAR, но не значительно ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR, когда ингибирующий CAR лигирован. Это называют «выключаемым лигированием» ингибирующим эндодоменом.

В этом случае, спейсер ингибирующего CAR имеет длину, заряд, геометрическую 15 форму и/или конфигурацию и/или гликозилирование, отличающиеся от спейсера активирующего CAR, так что когда оба рецептора лигированы, различия в размерах спейсеров ведут к выделению активирующих CAR и ингибирующих CAR в различные мембранные компартменты иммунологического синапса с тем, чтобы снять ингибирование активирующего эндодомена ингибирующим эндодоменом.

- 20 Следовательно, ингибирующие эндодомены для использования в выключаемом лигированием ингибирующем CAR могут содержать какую-либо последовательность, которая ингибирует Т-клеточную сигнализацию с помощью активирующего CAR, когда она находится в том же мембранным компартменте (т. е. в отсутствие антигена для ингибирующего CAR), но которая не значительно ингибирует Т-клеточную 25 сигнализацию, когда она изолирована в отдельной части мембраны от ингибирующего CAR.

Выключаемый лигированием ингибирующий эндодомен может представлять собой или содержать тирозиновую фосфатазу, такую как рецептороподобная тирозиновая фосфатаза. Ингибирующий эндодомен может представлять собой или содержать любую 30 тирозиновую фосфатазу, которая способна ингибировать передачу сигнала TCR, когда лигирован только стимулирующий receptor. Ингибирующий эндодомен может представлять собой или содержать любую тирозиновую фосфатазу с достаточно высокой скоростью катализа для фосфорилированных ITAM, которая способна ингибировать передачу сигнала TCR, когда лигирован только стимулирующий receptor.

- 35 Например, ингибирующий эндодомен логического элемента И может содержать эндодомен из CD148 или CD45. Показано, что CD148 и CD45 действует естественным путем на фосфорилированные тирозины выше по каскаду реакций от передачи сигнала TCR.

CD148 представляет собой рецептороподобную белковую тирозиновую фосфатазу, 40 которая отрицательно регулирует передачу сигнала TCR посредством препятствования фосфорилированию и функционированию PLC γ 1 и LAT.

CD45 присутствует на всех гематopoэтических клетках, представляет собой белковую тирозиновую фосфатазу, которая способна регулировать сигнальную трансдукцию и функциональные реакции, также посредством фосфорилирования PLC γ 1.

- 45 Ингибирующий эндодомен может содержать всю рецептороподобную тирозиновую фосфатазу или ее часть. Фосфатаза может препятствовать фосфорилированию и/или функционированию элементов, вовлеченных в передачу Т-клеточных сигналов, таких как PLC γ 1 и/или LAT.

Трансмембранный и эндодомен из CD45 и CD148 представлены как SEQ ID № 18 и № 19, соответственно.

SEQ ID 18 - последовательность трансмембранного и эндодомена CD45

ALIAFLAFLIIVTSIALLVLYKIYDLHKKRSCNLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHAD

5 ILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKPIKEARKPFNQNKNRYVDILPYDYNRVELS
EINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRDETVDFFWRMIWEQKATVIVMVTRCEE
GNRNKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVKINQHKRCPDYIIQKLNIVNKKEATGREVTHI
QFTSWPDHGVPEDPHLLKLRRRVNAFSNFFSGPIVHCSAGVGRGTGYIGIDAMLEGL
EAENKVDVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLH
10 NMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKH
ELEMSKESEHDSDESSDDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFWQ
MIFQRKVVKIVMLTELKHGDQEICAQYWGEVKQTYGDIEVDLKDTSSTYTLRFEL
RHSKRKDSRTVYQYQYTWSVEQLPAEPKELISMIVVVKQKLPQKNSSEGNKHHKSTP
15 LLIHCRDGSSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYD
VIASTYPAQNGQVKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAEGS
EPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

SEQ ID 19 - последовательность трансмембранного и эндодомена CD148

AVFGCIFGALIVTVGGFIFWRKKRKDAKNNEVSFSQIKPKKSKLIRVENFEAYFKKQ
QADSNCGFAEEYEDLKLVGISQPKYAAELAENRGKNRNNVLPYDISRVKLSVQTHST
20 DDYINANYMPGYHSKKDFIATQGPLPNTLKDFWRMVWEKNVYAIIMLTCKVEQGRTK
CEEYWPSKQAQDYGDITVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSESHPLRQFHFTSWPDHG
VPDTTDLLINFYLVRDYMKQSPPESPILVHCSAGVGRGTTFIAIDRLIYQIENENTVDVY
GIVYDLRMHRPLMVQTEDQYVFNLNCVLDIVRSQKDSKVDLIYQNTTAMTIYENLAPV
TTFGKTNGYIA

25 Ингибирующий CAR может содержать всю SEQ ID № 18 или 19 или ее часть (например, он может содержать фосфатазную функцию эндодомена). Он может содержать вариант последовательности или ее части, имеющий по меньшей мере 80% идентичности последовательностей до тех пор, пока вариант сохраняет способность базово ингибировать передачу Т-клеточных сигналов с помощью активирующего CAR.

30 Другие спейсеры и эндодомены можно тестировать, например, с использованием модельной системы, проиллюстрированной в настоящем документе. Популяции клеток-мишеней можно создавать посредством трансдукции подходящей клеточной линии, такой как клеточная линия SupT1, или однократно или двукратно для того, чтобы создавать клетки, негативные по обоим антигенам (дикого типа), положительные по любому и положительные по обоим (например CD19-CD33-, CD19+CD33-, CD19-CD33+ и CD19+CD33+). Т-клетки, такие как линия Т-клеток мыши BW5147, которые высвобождают IL-2 при активации, можно трансдуцировать парами CAR, и измерять их способность функционировать в логическом элементе через измерение высвобождения IL-2 (например, с помощью ELISA). Например, в примере 4 показано, что оба 35 эндодомена CD148 и CD45 могут выполнять функцию ингибирующих CAR в комбинации с активирующим CAR, содержащим дзета-эндодомен CD3. Эти CAR основаны на коротком/некрупном спейсере из «стебля» CD8 на одном CAR и крупном Fc спейсере на другом CAR, чтобы получать логическую функцию И. Когда оба рецептора 40 лигированы, различие в размерах спейсеров ведет к выделению различных рецепторов 45 в различные мембранные компартменты, что снимает ингибирование рецептора CD3-дзета эндодоменами CD148 или CD45. Таким образом, активация возникает только когда активируют оба рецептора. Можно легко видеть, что эту модульную систему можно использовать для того, чтобы тестировать альтернативные пары спейсеров и

ингибирующих эндодоменов. Если спейсеры не достигают изоляции после лигирования обоих рецепторов, ингибирирование не будет устранено и поэтому не произойдет активация. Если тестируемый ингибирующий эндодомен не эффективен, следует ожидать активации в присутствии лигирования активирующего CAR независимо от состояния лигирования ингибирующего CAR.

«ВКЛЮЧАЕМЫЙ ЛИГИРОВАНИЕМ» ЭНДОДОМЕН

В варианте осуществления, упомянутом выше в качестве логического элемента И НЕ, один из CAR содержит «включаемый лигированием» ингибирующий эндодомен так, что ингибирующий CAR не значительно ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR в отсутствие лигирования ингибирующего CAR, но ингибирует активацию Т-клеток с помощью активирующего CAR, когда ингибирующий CAR лигирован.

«Включаемый лигированием» ингибирующий эндодомен может представлять собой или содержать тирозиновую фосфатазу, которая не способна ингибировать передачу сигнала TCR, когда лигирован только стимулирующий receptor.

«Включаемый лигированием» ингибирующий эндодомен может представлять собой или содержать тирозиновую фосфатазу с достаточно низкой скоростью катализа для фосфорилированных ITAM, которая не способна ингибировать передачу сигнала TCR, когда лигирован только стимулирующий receptor, но она способна ингибировать ответ на передачу сигнала TCR, когда сконцентрирована в синапсе. Концентрация в синапсе достигается через лигирование ингибирующего receptor.

Если тирозиновая фосфатаза имеет скорость катализа, которая слишком велика для «включаемого лигированием» ингибирующего эндодомена, то возможно снижать скорость катализа фосфатазы через модификацию, такую как точечные мутации и короткие линкеры (которые вызывают стерические затруднения), чтобы делать ее подходящей для «включаемого лигированием» ингибирующего эндодомена.

В этом первом варианте осуществления эндодомен может представлять собой или содержать фосфатазу, которая значительно менее активна, чем CD45 или CD148, так что значимое дефосфорилирование ITAM возникает только когда активирующие и ингибирующие эндодомены совместно локализованы. В данной области известны многие подходящие последовательности. Например, ингибирующий эндодомен логического элемента НЕ И может содержать всю белковую тирозиновую фосфатазу, такую как PTPN6, или ее часть.

Белковые тирозиновые фосфатазы (PTP) представляют собой сигнальные молекулы, которые регулируют различные клеточные процессы, в том числе клеточный рост, дифференциацию, митотический цикл и онкогенная трансформация. N-концевая часть этой PTP содержит два tandemных гомологичных (SH2) домена Src, которые действуют в качестве белковых фосфотирозин-связывающих доменов и опосредуют взаимодействие этой PTP с ее субстратом. Этую PTP экспрессируют в первую очередь гематопоэтические клетки, и она функционирует в качестве важного регулятора множества путей передачи сигналов в гематопоэтических клетках.

Ингибирующий домен может содержать всю PTPN6 (SEQ ID № 20) или только фосфатазный домен (SEQ ID № 21).

SEQ ID 20 - последовательность PTPN6

MVRWFHRDLSGLDAETLLKGGRGVHGSFLARPSRKNQGDFSLSVRGDQVTHIRIQN
SGDFYDLYGGEKFKATLTELVEYYTQQQQVLQDRDGTIIHLKYPLNCSDPTSERWYHGH
MSGGQAETLLQAKGEPWTFLVRESLSQPGDFVLSVLSQPKAGPGSPLRVTHIKVMCE
GGRYTVGGLETFDSDLVLEHFKKTGIEEASGAFVYLRQPYYATRVNAADIENRVLELN

KKQESEDTAKAGFWEEFESLQKQEVKNLHQRLEGQRPENKGKNRYKNILPFDHSRVIL
 QGRDSNIPGSDYINANYIKNQLLGPDENAKTYIASQGCLEATVNDFWQMAWQENSIRVI
 VMTTREVEKGRNKCVPYWPEVMQRAYGPYSVTNCGEHDTTEYKLRTLQVSPLDNGD
 LIREIWHYQYLSWPDHGPSEPGGVLSFLDQINQRQESLPHAGPIIVHCSAGIGRTGTIIVI

5 DMLMENISTKGLCDCIDIQKTIQMVRARSGMVQTEAQYKFIYVAIAQFIETTKKLEV
 LQSQKGQESEYGNITYPPAMKNAHAKASRTSSKHKEDVYENLHTKNKREEVKVKQRS
 ADKEKSKGSLKRK

SEQ ID 21 - последовательность фосфатазного домена из PTPN6

FWEEFESLQKQEVKNLHQRLEGQRPENKGKNRYKNILPFDHSRVILQGRDSNIPGSD

10 YINANYIKNQLLGPDENAKTYIASQGCLEATVNDFWQMAWQENSRVIVMTTREVEKG
 RNKCVPYWPEVMQRAYGPYSVTNCGEHDTTEYKLRTLQVSPLDNGDLIREIWHYQY
 LSWPDHGPSEPGGVLSFLDQINQRQESLPHAGPIIVHCSAGIGRTGTIIVIDMLMENISTK
 GLDCDIDIQKTIQMVRARSGMVQTEAQYKFIYVAIAQF

Второй вариант осуществления включаемого лигированием ингибирующего

15 эндодомена представляет собой ITIM (иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив)-содержащий эндодомен, такой как таковой из CD22, LAIR-1, семейства рецепторов подавления цитотоксичности (KIR), LILRB1, CTLA4, PD-1, BTLA и т.д. Когда фосфорилированы, ITIM рекрутируют эндогенную PTPN6 через свой домен SH2. При совместной локализации с ITAM-содержащим эндодоменом, происходит

20 дефосфорилирование и ингибирование активирующего CAR.

ITIM представляет собой консервативную последовательность аминокислот (S/I/V/LxYxxI/V/L), которую находят в цитоплазматических хвостах многих ингибирующих рецепторов иммунной системы. Специалист в данной области может легко найти белковые домены, содержащие ITIM. Список вероятных ITIM-содержащих белков

25 человека создан посредством сканирования всего протеома (Staub, et al (2004) Cell. Signal. 16, 435-456). Кроме того, поскольку хорошо известна консенсусная последовательность и, по-видимому, необходима небольшая вторичная структура, специалист в данной области может создавать искусственные ITIM.

ITIM-эндодомены из PDCD1, BTLA4, LILRB1, LAIR1, CTLA4, KIR2DL1, KIR2DL4,

30 KIR2DL5, KIR3DL1 и KIR3DL3 представлены в SEQ ID с 22 до 31, соответственно.

SEQ ID 22 эндодомен PDCD1

CSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEY
 ATIVFPGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

SEQ ID 23 BTLA4

35 KLQRRWKRTQSQQGLQENSSGQSFFVRNKKVRRAPLSEGPHSLGCYNPMMEDGISY
 TTLRFPEMNIPRTGDAESEMQRPPPDCDDTVTYSALHKRQVGDYENVIPDFPEDEGIHY
 SELIQFGVGERPQAQENVDYVILKH

SEQ ID 24 LILRB1

LRHRRQGKHWTSRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVK

40 HTQPEDGVEMDTRSPHEDPQAVTYAEVKHSRPRREMSPPSPLSGEFLDTKDRQAEE
 DRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPA VPSIYATLAIH

SEQ ID 25 LAIR1

HRQNQIKQGPPRSKDEEQKPQQRPDLAQDVLERADKATVNGLPEKDRETDTSALA
 AGSSQEVTYAQLDHWALTQRTARAVSPQSTKPMAESITYAAVARH

45 SEQ ID 26 CTLA4

FLLWILA AVSSGLFFYSFLLTAVSLSKMLKKRSPLTTGVYVKMPPT EPECEKQFQPYF
 IPIN

SEQ ID 27 KIR2DL1

GNSRHLHVLIGTSVVIIPFAILLFFLLHRWCANKNAVVMQEPAGNRTVNREDSDE
QDPQEVTYTQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAESRSKVVSCP

SEQ ID 28 KIR2DL4

GIARHLHAVIRYSVAILFTILPFFLLHRWCSKKKENAAVMNQEPAGHRTVNREDSDE

5 QDPQEVTYAQLDHCIFTQRKITGPSQRSKRSTDTSCIELPNAEPRALSPAHEHHSQAL
MGSSRETTALSQTQLASSNVPAAGI

SEQ ID 29 KIR2DL5

TGIRRHLHILIGTSVAILFIILFFFLLHCCCSNKNAAVMDQEPAGDRTVNREDSDDQ

DPQEVTYAQLDHCVFTQTKITSPSQRPKTPPTDTTMYMELPNAKPRSLSPAHKHHSQAL
10 RGSSRETTALSQNRVASSHVPAAGI

SEQ ID 30 KIR3DL1

KDPRHLHILIGTSVVIIFILLFFLLHLWCSNKNAAVMDQEPAGNRTANSEDSDEQ
DPEEVTYAQLDHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDTLYTELPNAKPRSKVVSCP

SEQ ID 31 KIR3DL3

15 KDPGNSRHLHVLIGTSVVIIPFAILLFFLLHRWCANKNAVVMQEPAGNRTVNRED
SDEQDPQEVTYAQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDTSV

Третий вариант осуществления включаемого лигирования ингибирующего эндодомена представляет собой ITIM-содержащий эндодомен, совместно экспрессируемый со слитным белком. Слитный белок может содержать по меньшей

20 мере часть белковой тирозиновой фосфатазы и по меньшей мере часть рецептороподобной тирозиновой фосфатазы. Слитная конструкция может содержать один или несколько доменов SH2 из белковой тирозиновой фосфатазы. Например, слитная конструкция может быть между доменом SH2 PTPN6 и эндодоменом CD45 или между доменом SH2 PTPN6 и эндодоменом CD148. Когда фосфорилированы, ITIM-
25 домены рекрутируют слитный белок, приводя высоко активную фосфатазу CD45 или CD148 в непосредственную близость с активирующим эндодоменом, блокируя активацию.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ слитных белков перечислены 32 и 33

SEQ ID 32 слитный белок PTPN6-CD45

30 WYHGHMSGGQAETLLQAKGEWPWTFLVRESLSQPGDFVLSVLSQPKAGPGSPLRVT
HIKVMCEGGRYTVGGLETFDSDLTLVEHFKKTGIEEASGAFVYLQPYKIYDLHKKRSC
NLDEQQELVERDDEKQLMNVEPIHADILLETYKRKIADEGRLFLAEFQSIPRVFSKFPIKE
ARKPFNQNKNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEPRKYIAAQGPRD
ETVDDFWRMIWEQKATVIVMTRCEEGNRNKCAEWPSMEEGTRAFGDVVVKINQH

35 KRCPDYIIQKLNIVNKKEATGREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLKLRRRVNAFSNFFS
GPIVVHCSAGVGRGTGYIGIDAMLEGLEAENKVDTVGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYIL
IHQALVEYNQFGETEVNLSELHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRTQHIG
NQEENKSKRNSNVIPYDYNRVLKHELEMSKESEHSDDESSDDSDSEEPSKYINASFIM
SYWKPEVMIAAQGPLKETIGDFMIQRKVVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEVKQTYG

40 DIEVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQYQYTNWSVEQLPAEPKELISMIV
VKQKLPQKNSSEGNKHHKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQVVKA
LRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKNNHQEDKIEFDNEVDKVKQDAN
CVNPLGAPEKLPEAKEQAEGSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS

SEQ ID 33 слитный белок PTPN6-CD148

45 ETLLQAKGEWPWTFLVRESLSQPGDFVLSVLSQPKAGPGSPLRVTIKVMCEGGRYT
VGGLETFDSDLTLVEHFKKTGIEEASGAFVYLQPYRKKRKDAKNNEVSFSQIKPKKSK
LIRVENFEAYFKKQQADSNCGFAEEYEDLKLVGISQPKYAAELAENRGKNRYNNVLPY
DISRVKLSVQTHSTDDYINANYMPGYHSKKDFIATQGPLPNTLKDFWRMVWEKNVYAI

IMLTKCVEQGRTKCEEYWPSKQAQDYGDITVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSESHP
 LRQFHFTSWPDHGVPDTTDLLINFRLVRYDYMKSPPESPILVHCSAGVGRTGTFIAIDR
 LIYQIENENTVDVYGVYDLRMHRPLMVQTEDQYVFLNQCVLDIRSQKDSKVVDLIYQ
 NTTAMTIYENLAPVTTFGKTNGYIA

- ⁵ Включаемый лигированием ингибирующий CAR может содержать всю SEQ ID № 20 или 21 или ее часть. Он может содержать всю SEQ ID с 22 до 31 или ее часть. Он может содержать всю SEQ ID с 22 до 31 или ее часть, совместно экспрессированную с любой SEQ ID 32 или 33. Он может содержать вариант последовательности или его часть, который имеет по меньшей мере 80% идентичности последовательностей, до тех пор,
¹⁰ пока вариант сохраняет способность ингибировать Т-клеточную сигнализацию с помощью активирующего CAR при лигировании ингибирующего CAR.

Как указано выше, альтернативные спейсеры и эндодомены можно тестировать, например, с использованием модельной системы, приведенной в качестве примера в настоящем документе. В примере 5 показано, что эндодомен PTPN6 может выполнять ¹⁵ функцию полуингибирующего CAR в комбинации с активирующим CAR, который содержит дзета-эндодомен CD3. Эти CAR основаны на спейсере из «стебля» CD8 человека на одном CAR и спейсере из «стебля» CD8 мыши на другом CAR. Ортологичные последовательности препятствуют образованию перекрестных пар. Однако, когда оба ²⁰ рецептора лигирвоаны, сходство между спейсерами ведет к совместной сегрегации различных рецепторов в одних и тех же мембранных компартментах. Это ведет к ингибираванию CD3 дзета рецептора эндодоменом PTPN6. Если лигирован только активирующий CAR, эндодомен PTPN6 не достаточно активен для того, чтобы предотвращать активацию Т-клетки. Таким образом, активация происходит, если лигирован только активирующий CAR, а ингибирующий CAR не лигирован (логическая ²⁵ функция И НЕ). Можно легко видеть, что модульную систему можно использовать для того, чтобы тестировать альтернативные пары спейсеров и ингибирующие домены. Если спейсеры не достигают совместной сегрегации после лигирования обоих рецепторов, ингибиование не будет эффективным и, таким образом, будет происходить активация. Если тестируемый полуингибирующий эндодомен неэффективен, следует ³⁰ ожидать активации в присутствии лигирования активирующего CAR, независимо от состояния лигирования полуингибирующего CAR.

МЕСТО КОЭКСПРЕССИИ

Второй аспект изобретения относится к нуклеиновой кислоте, которая кодирует первый и второй CAR.

- ³⁵ Нуклеиновая кислота может давать полипептид, который содержит две молекулы CAR, соединенные через сайт расщепления. Сайт расщепления может быть саморасщепляющимся, так что при получении полипептида, он незамедлительно расщепляется на первый и второй CAR без потребности в какой-либо внешней расщепляющей активности.

⁴⁰ Известны различные саморасщепляющиеся сайты, в том числе саморасщепляющийся пептид 2а вируса ящура (FMDV), который имеет последовательность, представленную в качестве SEQ ID № 34:

SEQ ID № 34

RAEGRGSSLTCGDVEENPGP

- ⁴⁵ Коэкспрессирующая последовательность может представлять собой внутреннюю последовательность связывания рибосомы (IRES). Коэкспрессирующая последовательность может представлять собой внутренний промотор.

КЛЕТКА

Первый аспект изобретения относится к клетке, которая совместно экспрессирует первый CAR и второй CAR на клеточной поверхности.

Клетка может представлять собой какую-либо эукариотическую клетку, способную экспрессировать CAR на поверхности клетки, такой как иммунная клетка.

- 5 В частности, клетка может представлять собой иммунную эффекторную клетку, такую как Т-клетка или естественная киллерная (NK) клетка.

Т-клетки или Т-лимфоциты представляют собой тип лимфоцитов, который играет центральную роль в клеточно-опосредованном иммунитете. Их можно отличать от других лимфоцитов, таких как В-клетки и естественные киллерные клетки, с помощью 10 присутствия Т-клеточного рецептора (TCR) на клеточной поверхности. Существуют различные типы Т-клетки, как кратко изложено далее.

- 15 Т-хелперные клетки (TH клетки) помогают другим белым клеткам крови в иммунологических процессах, в том числе в созревании В-клеток в плазматические клетки и В-клетки памяти и активации цитотоксических Т-клеток и макрофагов. На 20 своей поверхности TH клетки экспрессируют CD4. Активация TH клеток происходит, когда молекулы МНС II класса на поверхности антигенпредставляющих клеток (APC) презентируют им пептидные антигены. Эти клетки можно отнести к одному из нескольких подтипов, в том числе TH1, TH2, TH3, TH17, Th9 или TFH, которые секретируют различные цитокины для того, чтобы содействовать различными типам иммунного ответа.

- 25 Цитотоксические Т-клетки (TC клетки или CTL) уничтожают инфицированные вирусами клетки и опухолевые клетки, и также участвуют в отторжении трансплантата. CTL экспрессируют CD8 на своей поверхности. Эти клетки распознают свои мишени посредством связывания с антигеном, связанным с МНС I класса, который присутствует на поверхности всех ядроодержащих клеток. Через IL-10, аденоzin и другие молекулы, секретируемые регуляторными Т-клетками, CD8+ клетки можно инактивировать до анергического состояния, которое препятствует аутоиммунным заболеваниям, таким как экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит.

- 30 Т-клетки памяти представляют собой подмножество антигенспецифичных Т-клеток, которые персистируют длительное время после разрешения инфекции. Они быстро размножаются до большого числа эффекторных Т-клеток при повторном воздействии их когнатного антигена, таким образом обеспечивая «память» иммунной системы о прошлых инфекциях. Т-клетки памяти содержат три подтипа: центральные Т-клетки памяти (TCM клетки) и два типа эффекторных Т-клеток памяти (TEM клетки и TEMRA 35 клетки). Клетки памяти могут быть или CD4+ или CD8+. Т-клетки памяти типично экспрессируют белок клеточной поверхности CD45RO.

- 40 Регуляторные Т-клетки (клетки Treg), ранее известные как супрессорные Т-клетки, критически важны для поддержания иммунологической толерантности. Их основная роль состоит в том, чтобы переключать Т-клеточно-опосредованный иммунитет в направлении окончания иммунной реакции и продавливать аутореактивные Т-клетки, которые избежали процесса негативной селекции в тимусе.

Описано два основных класса CD4+ клеток Treg - встречающиеся в природе клетки Treg и адаптивные клетки Treg.

- 45 Встречающиеся в природе клетки Treg (также известные как CD4+CD25+FoxP3+ клетки Treg) образуются в тимусе и связаны с взаимодействиями развивающихся Т-клеток как с миелоидными (CD11c+), так и с плазмоцитоидными (CD123+) дендритными клетками, которые активированы с использованием TSLP. Встречающиеся в природе клетки Treg можно отличать от других Т-клеток по присутствию внутриклеточной

молекулы, называемой FoxP3. Мутации гена FOXP3 могут препятствовать развитию регуляторных Т-клеток, вызывая смертельное аутоиммунное заболевание IPEX.

Адаптивные клетки Treg (также известные как клетки Tr1 или клетки Th3) могут появляться во время нормального иммунного ответа.

- 5 Т-клетка по изобретению может относиться к любому из типов Т-клеток, которые указаны выше, в частности, к CTL.

Естественные киллерные (NK) клетки относятся к типу цитолитических клеток, которые образуют часть врожденной иммунной системы. Естественные киллерные клетки обеспечивают быстрый ответ на врожденный сигнал от инфицированных

- 10 вирусами клеток независимым от МНС образом.

Естественные киллерные клетки (относящиеся к группе врожденных лимфоидных клеток) определяют как большие гранулярные лимфоциты (LGL), который составляют третий тип клеток, дифференцированный от общего лимфоидного предшественника, образующего В- и Т-лимфоциты. Известно, что естественные киллерные клетки

- 15 дифференцируются и созревают в костном мозге, лимфатических узлах, селезенке, миндалинах и тимусе, где после этого они выходят в циркуляцию.

CAR клетки по изобретению могут относиться к любому указанному выше типу клеток.

- CAR-экспрессирующие клетки, такие как CAR-экспрессирующие Т-клетки или 20 естественные киллерные клетки, можно или создавать ex vivo или брать из собственной периферической крови пациента (1-я сторона), или в условиях трансплантата гематопоэтических стволовых клеток из донорской периферической крови (2-я сторона) или периферической крови от неродственного донора (3-я сторона).

- 25 Настоящее изобретение также предусматривает клеточную композицию, которая содержит CAR-экспрессирующие Т-клетки и/или CAR-экспрессирующие естественные киллерные клетки в соответствии с настоящим изобретением. Клеточную композицию можно создавать посредством трансдукции или трансфекции образца крови ex vivo с использованием нуклеиновой кислоты в соответствии с настоящим изобретением.

- 30 Альтернативно, CAR-экспрессирующие клетки можно получать путем дифференциации ex vivo индуцильных клеток-предшественников или эмбриональных клеток-предшественников в клетки релевантного типа, такие как Т-клетки.

Альтернативно, можно использовать бессмертную клеточную линию, такую как линия Т-клеток, которая сохраняет свою липидическую функцию и может действовать в качестве терапевтического средства.

- 35 Во всех этих вариантах осуществления CAR клетки получают посредством введения ДНК или РНК, кодирующих CAR, с помощью одного из множества средств, включая трансдукцию с использованием вирусного вектора, трансфекцию с использованием ДНК или РНК.

- 40 CAR Т-клетка по изобретению может представлять собой Т-клетку ex vivo от субъекта. Т-клетка может быть из образца мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC). Т-клетки можно активировать и/или размножать перед трансдукцией кодирующей CAR нуклеиновой кислотой, например, посредством обработки моноклональным антителом против CD3.

CAR Т-клетку по изобретению можно создавать путем:

- 45 (i) выделения содержащего Т-клетки образца у субъекта или из других источников, перечисленных выше; и

(ii) трансдукции или трансфекции Т-клеток одной или несколькими последовательностями нуклеиновых кислот, которые кодируют первый и второй CAR.

Затем Т-клетки можно очищать, например, отбирать на основании коэкспрессии первого и второго CAR.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Второй аспект изобретения относится к одной или нескольким последовательностям

- 5 нуклеиновых кислот, которые кодируют первый CAR и второй CAR, как определено в первом аспекте изобретения.

Последовательность нуклеиновой кислоты может содержать одну из следующих последовательностей или ее вариант

SEQ ID 35 логический элемент ИЛИ

- 10 SEQ ID 36 логический элемент И с использованием CD45

SEQ ID 37 логический элемент И с использованием CD148

SEQ ID 38 логический элемент И ИЕ с использованием PTPN6 в качестве эндодомена

SEQ ID 39 логический элемент И ИЕ с использованием эндодомена LAIR1

SEQ ID 40 логический элемент И ИЕ с использованием слитой конструкции LAIR1

- 15 и PTPN6 SH2 с фосфатазой CD148

SEQ ID № 35:

>MP13974.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3pvaa-CD28tmZw
ATGAGCCTGCCGTACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCCCTGCTGCACGCCG

CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCACCGAGCAGCCTGAGGCCAGCCTGGGC

- 20 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGAAC TG
GTACCAGCAGAACGCCCACGGCACCGTGAAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGGC
TGCACAGCGCGTGCCTGCCAGCGTTAGCGGCAGCGGCAGCGGACCTACAGC
CTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
CAACACCCCTGCCCTACACCTTCGGAGGGCGCACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCCG

- 25 GAGGC GGAGGCTCTGGCGGAGGC GGCTCTGGCGGAGGC GGCTCTGGCGGAGGC GG
CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCAGGC CTGGTGGCCCCAAGCCAGAGCC
TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
ATCAGGCAGCCCCACCGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGGGCAGCGA
GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA

- 30 GCAAGAGCCAGGTGTT CCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCATC
TA TACTGC GCCAAGCACTACTACTATGGCGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCACGACGCCAGCGCCGCGAC
CACCAACACCGGGGCCACCATCGCGTCGCAGCCCTGCCCTGCCAGAGGGCG
TGCCGGCCAGCGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA

- 35 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGT
AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTT CAGCAGGAGCGCAG
ACGCCCGCGTAC CAGCAGGCCAGAAC CAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
CGAAGAGAGGAGTACGATTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCCTGAGATGG
GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAAC TG CAGAA

- 40 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCAGCGCCGGAGG
GGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAAGGGCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAAATCCGGGCCATGGCGTGCCCACTCAG
GTCCTGGGGTTGCTACTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACA

- 45 CAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGCGAGATCGCGTCACCATCACCTGT CGA
GCAAGTGAGGACATTATTTAATTAGTGTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGGC
CCCTAACGCTCCTGATCTATGATACAAATCGCTGGCAGATGGGGTCCCATCACGGTT
CAGTGGCTCTGGATCTGGCACACAGTATACTCTAACATAAGTAGCCTGCAACCCG

AAGATTCGCAACCTATTATTGTCAACACTATAAGAATTATCCGCTCACGTTGGTC
 AGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAGATCTGGTGGCGGAGGGTCAGGAGGCAGGAGG
 CAGCGGAGGCAGGTGGCTCGGGAGGCAGGCTCGAGATCTGAGGTGCAGTGGTG
 GAGTCTGGGGCGGCTTGGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGGCTCTCCTGTGCAGC
 5 CTCAGGATTCACTCTCAGTAATTATGGCATGCACTGGATCAGGCAGGCTCCAGGGA
 AGGGTCTGGAGTGGGTCTCGTCTATTAGTCTTAATGGTGGTAGCAGTACTATCGAG
 ACTCCGTGAAGGGCGATTCACTATCTCCAGGGACAATGCAAAAAGCACCCCTAC
 CTTCAAATGAATAGTCTGAGGGCCGAGGACACGCCGTCTATTACTGTGCAGCACA
 GGACGCTTATACGGGAGGTTACTTTGATTACTGGGGCCAAGGAACGCTGGTCACAG
 10 TCTCGTCTATGGATCCCAGGCCAAATCTCCTGACAAAACACATGCCAC
 CGTCCCCAGCACCTCCCGTGGCCGGCCGTCACTCTCCTCTTCCCCAAAACCCA
 AGGACACCCCTCATGATGCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTG
 AGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA
 TAATGCCAAGACAAAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC
 15 AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA
 GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAG
 GGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC
 AAGAACCAAGGTCAACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC
 CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAACCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC
 20 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
 AGGTGGCAGCAGGGAACGTCTCTCATGCTCCGTATGCATGAGGCCCTGCACAA
 TCACTATACCCAGAAATCTCTGAGTCTGAGCCCAGGCAAGAAGGACCCCAAGTTCT
 GGGTCCTGGTGGTGGAGGGCGTGTGGCTGGCCTGTTACTCTCTCCTGGTACCGTGG
 CCTCATCATCTTTGGGTGCGCTCCGGGTGAAGTTCTCGCTCTGCCATGCC
 25 AGCCTATCAGCAGGGCCAGAACAGCTGTACAATGAACCTGGCAGGCAGG
 AGGAGTACGACGTGCTGGATAAGCGGAGAGCAGAGACCCCGAGATGGCGGCAA
 ACCACGGCGAAAAATCCCCAGGAGGGACTCTATAACGAGCTGCAGAAGGACAAA
 ATGGCCGAGGCCTATTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAGAGAACAGCGGAAAGG
 GCCACGACGGCCTGTATCAGGGATTGTCCACCGCTACAAAAGATACATATGATGCC
 30 CTGCACATGCAGGCCCTGCCACCCAGATGA

SEQ ID № 36

>MP14802.SFG.aCD19fmc63_clean-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3pvaa-dCD45

ATGAGCCTGCCGTACCGCCCTGCTGCTGCCCTGGCCCTGCTGCTGCACGCCG

35 CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCACCAAGCAGCAGCCTGAGGCCAGCCTGGC
 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGGCAGGACATCAGCAAGTACCTGAAC
 GTTACCAAGCAGAACGCCCCAGGGCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGAC
 TACAGCAGCGCGTGCCTGGCAGCCGGACTACAGCAGCGGAC
 CTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 40 CAACACCCCTGCCCTACACCTTGGAGGGCGACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCC
 GAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCC
 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCAGGCCTGGTGGCCCAAGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGGCAGCAGCGGACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCACGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGGGCAGCGA
 45 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 GCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCATC
 TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTATGGCGGAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCAAGCAGGCCAGCGCCGAC

CACCAACACCGGCGCCACCATCGCGTCGCAGCCCCCTGCCCTGCAGCCCAGAGGCG
 TGCCGGCCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA
 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTGCTATAGCTTGCTAGT
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG
 5 ACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCGAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 CGAAGAGAGGAGTACGATTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCCTGAGATGG
 GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACGTGAGAA
 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCGAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 10 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
 TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAAATCCCGGGCCATGGCCGTGCCCACTCAG
 GTCCTGGGTTGTGCTACTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACA
 CAGTCTCCATCTCCCTGTGCATCTGCGAGATCGCGTACCCATCACCTGTGCA
 GCAAGTGAGGACATTATTAAATTAGTGTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGGC
 15 CCCTAACGCTCCTGATCTATGATACAAATCGCTGGCAGATGGGGTCCCACGGTT
 CAGTGGCTCTGGATCTGGCACACAGTATACTCTAACCATAAAGTAGCCTGCAACCCG
 AAGATTTCGCAACCTATTATTGTCAACACTATAAGAATTATCCGCTCACGTTGGTC
 AGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAGATCTGGTGGCGGAGGGTCAGGAGGCGGAGG
 CAGCGGAGGCAGGTGGCTCGGGAGGCGAGGCTCGAGATCTGAGGTGCAGTTGGT
 20 GAGTCTGGGGCGGCTGGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGGCTCTCCTGTGCAGC
 CTCAGGATTCACTCTCAGTAATTATGGCATGCAGGGATCAGGCAGGCTCCAGGGA
 AGGGTCTGGAGTGGGTCTCGTCTATTAGTCTTAATGGTGGTAGCAGTACTATCGAG
 ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATCTCAGGGACAATGCAAAAGCACCCCTTAC
 CTTCAAATGAATAGTCTGAGGGCCGAGGACACGGCGTCTATTACTGTGCAGCACA
 25 GGACGCTTACGGGAGGTTACTTGATTACTGGGGCCAAGGAACGCTGGTCACAG
 TCTCGTCTATGGATCCCGCCAGGCCAAATCTCCTGACAAAAACTCACACATGCCAC
 CGTCCCCAGCACCTCCCGTGGCCGGCCGTAGTCTCCTCTCCCCAAAACCCA
 AGGACACCCTCATGATCGCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGAGGTGCA
 AGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA
 30 TAATGCCAAGACAAAGCCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTC
 AGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC
 GGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAG
 GGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCGGGATGAGCTGACC
 AAGAACCGAGGTACGCGTACCTGCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGCGACATCGC
 35 CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAACCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC
 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
 AGGTGGCAGCAGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTATGCGATGAGGCGCTGCACAA
 TCACTATACCCAGAAATCTCTGAGTCTGAGCCCAGGCAAGAAGGACCCCAAGGCAC
 TGATAGCATTCTGGCATTCTGATTATTGTGACATCAATAGCCCTGTTGTTCT
 40 CTACAAAAATCTATGATCTACATAAGAAAAGATCCTGCAATTAGATGAACAGCAGG
 AGCTTGTGAAAGGGATGATGAAAAACAAACTGATGAATGTGGAGCCAATCCATGCA
 GATATTGTTGGAAACTTATAAGAGGAAGATTGCTGATGAAGGAAGACTTTCTG
 GCTGAATTTCAGAGCATCCCGCGGGTGTTCAGCAAGTTCCCTATAAAGGAAGCTCG
 AAAGCCCTTAACCAGAATAAAAACCGTTATGTTGACATTCTCCTTATGATTATAA
 45 CCGTGTGAACCTCTGAGATAACGGAGATGCAGGGTCAAACACTACATAAATGCCA
 GCTATATTGATGGTTCAAAGAACCCAGGAAATACATTGCTGCACAAGGTCCCAGG
 GATGAAACTGTTGATGATTCTGGAGGATGATTGGGAACAGAAAGCCACAGTTAT
 TGTCATGGTCACTCGATGTGAAGAAGGAAACAGGAACAAGTGTGCAGAATACTGGC

CGTCAATGGAAGAGGGCACTCGGGCTTTGGAGATGTTGTAAGATCAACCAG
 CACAAAAGATGTCCAGATTACATCATTCAAATTGAACATTGAAATAAAAAAGA
 AAAAGCAACTGGAAGAGAGGTGACTCACATTCACTGCTCCTCAAAGTGAAGGAGAGTGAATGCCTTC
 5 AGCAATTCTTCAGTGGTCCCATTGTGGTGCAGTGCTGGTGGCAGACAG
 GGAACCTATATCGGAATTGATGCCATGCTAGAAGGCCTGGAAGGCCAGAACAAAGT
 GGATGTTATGGTTATGTTGTCAAGCTAAGGCACAGAGATGCCTGATGGTTCAAGT
 AGAGGCCAGTACATCTGATCCATCAGGCTTGGTGGAAATACAATCAGTTGGAG
 AAACAGAAGTGAATTGTCAGTGAATTACATCCATATCTACATAACATGAAGAAAAGG
 10 GATCCACCCAGTGAGCCGTCTCCACTAGAGGCTGAATTCCAGAGACTTCCTTCATAT
 AGGAGCTGGAGGACACAGCACATTGAAATCAAGAAGAAAATAAGTAAAAACA
 GGAATTCTAATGTCATCCCATATGACTAAACAGAGTGCCACTAAACATGAGCTGG
 AAATGAGTAAAGAGAGTGAAGCATGATTGAGCTAGATGAATCCTCTGATGATGACAGTGAT
 TCAGAGGAACCAAGCAAATACATCAATGCATCTTATAATGAGCTACTGGAAACC
 15 TGAAGTGATGATTGCTGCTCAGGGACCACTGAAGGAGACCATTGGTACTTTGGC
 AGATGATCTTCAAAGAAAAGTCAAAGTATTGTTATGCTGACAGAACTGAAACAT
 GGAGACCAGGAAATCTGTGCTCAGTACTGGGAGAAGGAAAGCAAACATATGGAG
 ATATTGAAGTTGACCTGAAAGACACAGACAAATCTCAACTTATACCCTCGTGTCT
 TTGAAGTGGAGACATTCCAAGAGGAAAGACTCTGAACGTGTGATGACAGTACCAATAT
 20 ACAAACTGGAGTGTGGAGCAGCTCCTGCAGAACCCAAAGGAATTAAATCTCTATGAT
 TCAGGTGTCAAACAAAAACTTCCCCAGAAGAATTCTCTGAAAGGGAAACAAGCATC
 ACAAGAGTACACCTCTACTCATTCACTGCAGGGATGGATCTCAGCAAACGGGAATA
 TTTGTGCTTGTAAATCTTAGAAAGTGCAGAACAGAAGAGGTAGTGGATATT
 TTTCAAGTGGTAAAGCTCTACGCAAAGCTAGGCCAGGCATGGTTCCACATTGCA
 25 GCAATATCAATTCTATATGACGTATTGCCAGCACCTACCCTGCTCAGAATGGACA
 AGTAAAGAAAAACAACCATCAAGAAGATAAAATTGAATTGATAATGAAGTGGAC
 AAAGTAAAGCAGGATGCTAATTGTTAATCCACTGGTGCCTCAGAAAGCTCCC
 TGAAGCAAAGGAACAGGCTGAAGGTTCTGAACCCACGAGTGGCACTGAGGGGCCA
 GAACATTCTGTCAATGGCCTGCAAGTCCAGCTTAAATCAAGGTTCATAG

30 SEQ ID № 37:

>MP14801.SFG.aCD19fmc63_clean-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3pvaa-dCD148

ATGAGCCTGCCGTACCGCCCTGCTGCTGCCCTGGCCCTGCTGCTGCACGCCG
 CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCAGACCAGCAGCCTGAGGCCAGCCTGGC
 35 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGAACTG
 GTACCAGCAGAAGCCGACGGCACCGTGAAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGGC
 TGACAGCGCGTGCCTAGCCAGCGGTTAGCGGCAGCGGCAGCGGACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 CAACACCCCTGCCCTACACCTTGGAGGCGGCCACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCCG
 40 GAGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGCGGCTCTGGCGGAGGCGGCTCTGGCGGAGGCGG
 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCAGGCCCTGGTGGCCCCAAGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCACGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTATCTGGGGCAGCGA
 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 45 GCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCATC
 TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTATGGCGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCACGACGCCAGCGCCGCGAC
 CACCAACACCGGCCACCACCGTGCAGCCCTGTCCTGCCAGAGGGCG

TGCCGGCCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA
 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGT
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACCAGCAGGCCAGAACCAAGCAGCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 5 CGAAGAGAGGAGTACGATGTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCCTGAGATGG
 GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTAGGAAGGCCTGTACAATGAACTCAGAAG
 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGAAAGTC
 10 TTCTAACATGCGGGGACGTGGAGGAAAATCCCAGGCCATGGCCGTGCCACTCAG
 GTCCTGGGTTGCTACTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACA
 CAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGCGAGATCGCGTACCATCACCTGTCGA
 GCAAGTGAGGACATTATTTAATTAGTGTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGGC
 CCCTAACGCTCCTGATCTATGATACAAATCGCTTGGCAGATGGGGTCCCACCGGTT
 15 CAGTGGCTCTGGATCTGGCACACAGTACTCTAACATAAGTAGCCTGCAACCCG
 AAGATTCGCAACCTATTATTGTCAACACTATAAGAATTATCCGCTCACGTTGGTC
 AGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAGATCTGGTGGCGGAGGGTCAGGAGGCGGAGG
 CAGCGGAGGCAGTGGCTCGGGAGGCGGAGGCTCGAGATCTGAGGTGCAGTTGGT
 GAGTCTGGGGCGGCTTGGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGGCTCTCCTGTGCAGC
 20 CTCAGGATTCACTCTCAGTAATTATGGCATGCACTGGATCAGGCAGGCTCCAGGGA
 AGGGTCTGGAGTGGGTCTCGTCTATTAGTCTTAATGGTGGTAGCAGTACTATCGAG
 ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGGGACAATGCAAAAAGCACCCCTTAC
 CTTCAAATGAATAGTCTGAGGGCCGAGGACACGGCCGTCTATTACTGTGCAGCACA
 GGACGCTTATACGGGAGGTTACTTTGATTACTGGGGCCAAGGAACGCTGGTCACAG
 25 TCTCGTCTATGGATCCCAGGCCAAATCTCCTGACAAAACACACATGCCAC
 CGTCCCCAGCACCTCCCGTGGCCGGCCGTAGTCTCCTCTTCCCCCAAAACCCA
 AGGACACCCTCATGATGCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTG
 AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCA
 TAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACACGACGTACCGTGTGGTC
 30 AGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAA
 GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAG
 GGCAGCCCCGAGAACACACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGATGAGCTGACC
 AAGAACCGAGGTAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC
 CGTGGAGTGGGAGGAGCAATGGCAACCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCC
 35 GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTCTTCCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
 AGGTGGCAGCAGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAA
 TCACTATACCCAGAAATCTCTGAGTCTGAGCCCAGGCAAGAAGGACCCCAAGGCGG
 TTTTGCTGTATCTTGGTGCCTGGTTATTGTGACTGTGGAGGCTTCATCTTCTG
 GAGAAAGAAGAGGAAAGATGCAAAGAATAATGAAGTGTCTTTCTCAAATTAAAC
 40 CTAAAAAAATCTAAGTAATCAGAGTGGAGAATTGAGGCCTACTCAAGAACAG
 CAAGCTGACTCCAACCTGTGGGTCGCAGAGGAATACGAAGATCTGAAGCTTGTGG
 AATTAGTCAACCTAAATATGCAGCAGAACACTGGCTGAGAATAGAGGAAAGAACGCT
 ATAATAATGTTCTGCCCTATGATATTCCCGTGTCAAACACTTCGGCTACCACTCCAAGAAAGATT
 AACGGATGACTACATCAATGCCAACTACATGCCTGGCTACCACTCCAAGAAAGATT
 45 TTATTGCCACACAAGGACCTTACCGAACACTTGAAAGATTGGCGTATGGTT
 GGGAGAAAAATGTATATGCCATCATTATGTTGACTAAATGTGTTGAACAGGGAAGA
 ACCAAATGTGAGGAGTATTGGCCCTCCAAGCAGGCTCAGGACTATGGAGACATAAC
 TGTGGCAATGACATCAGAAATTGTTCTCCGAATGGACCATCAGAGATTTCACAGT

GAAAAATATCCAGACAAGTGAGAGTCACCCCTCTGAGACAGTCCATTCACCTCCTG
 GCCAGACCACGGTGTCCCACACCACTGACCTGCTCATCAACTCCGGTACCTCGT
 TCGTGA
 5 CTGACTACATGAAGCAGAGTCCTCCGAATGCCGATTCTGGTGCATTGCAGTGC
 TGGGGTGGAAAGGACGGGACTTCATTGCCATTGATCGTCTCATCTACCAAGATAGA
 GAATGAGAACACCGTGGATGTATGGGATTGTATGACCTCGAATGCATAGGC
 CTTAATGGTGCAGACAGAGGACCACTATGTTTCCTCAATCAGTGTGTTTGGATA
 TTGTCAGATCCCAGAAAGACTCAAAAGTAGATCTTATCTACCAAGAACACAAC
 ATGACAATCTATGAAAACCTTGCGCCGTGACCACATTGGAAAGACCAATGGTTA
 CATCGCCTAA

10 SEQ ID № 38
 >16076.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-tm-dPTPN6
 ATGAGCCTGCCGTACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCCCTGCTGCTGCACGCCG
 CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCACCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGC
 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGGCAGGACATCAGCAAGTACCTGA
 15 ACTG GTACCAGCAGAAGCCCACGGCACCGTGAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGGC
 TGACAGCGCGTGCCTAGCCGGTTAGCGGCAGCGGCAGCGGACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 CAACACCTGCCCTACACCTCGGAGGCCGACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCCG
 GAGGCAGGCTCTGGCGAGGCCGCTCTGGCGAGGCCGCTCTGGCGAGGCCG
 20 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGCCTGGTGGCCCCAAGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCACGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGGGCAGCGA
 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 GCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC
 25 GCAT TACTACTGCGCCAAGCACTACTATGGCGGAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCACGACGCCAGCGCCGC
 CACCAACACCGGCCACCACATCGCGTCGAGCCCTGCCCTGCCAGAGGCC
 TGCCGGCCAGCGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCG
 30 CCTGTGA TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTGCTATAGCT
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGTGAGGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACAGCAGGCCAGAACAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 CGAAGAGAGGAGTACGATGTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCC
 35 CTGAGATGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCTCAGGAAGGCCTGTACA
 AGTAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCCAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGCACGATGGCCTTACCAAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACAC
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
 TTCTAACATGCAGGGGACGTGGAGGAAAATCCCGGCCATGGCGT
 40 CCCACTCAGTCTCCCTGTGCATCTGCGAGATCGCGTCACCATCAC
 CAGTCTCCATCTCCCTGTGCATCTGCGAGATCGCGTCACCATCAC
 GCAAGTGAGGACATTATTAAATTAGTGTGGTATCAGCAGAAC
 ACCAGGAAAGGC
 CCCTAACGCTCCTGATCTATGATACAAATCGCTGGCAGATGGGG
 45 CCCCATCACGGTT
 CAGTGGCTCTGGATCTGGCACACAGTATACTCTAAC
 CAGTAAAGAATTATCCGCTCACGTTGGTC
 AGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAGATCTGGTGGCGGAGGGT
 CAGGAGGCCAGG
 CAGCGGAGGC
 50 GGGTGGCTGGCTGGCTCGGGAGGCCGAGGCTCGAGATCTGAGGT
 GAGTCTGGGGCGGCTGGTGCAGCCTGGAGGGT
 CCGTCTGGCTGGAGGCTCTGAGGCTCTCCTGTGCAGC
 CTCAGGATTCACTCTCAGTAATTATGGCATGC
 AACTGGGATCAGGCAGGCTCCAGGG
 AGGGTCTGGAGTGGGT
 CTCGTCTATTAGTCTTAATGGTGGTAGC
 ACTTACTATCGAG

ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGGGACAATGAAAAAGCACCCCTAC
 CTTCAAATGAATAGTCTGAGGGCCGAGGACACGCCGTCTATTACTGTGCAGCACA
 GGACGCTTATACGGGAGGTTACTTGATTACTGGGGCCAAGGAACGCTGGTCACAG
 TCTCGTCTATGGATCCGCCACCACAACCAAGCCCCTGCTGCCGGACCCCAAGCCCTG
 5 TGCACCCCTACCGGCACCAGCCAGCCTCAGAGACCCGAGGACTGCCGGCTCGGGC
 AGCGTGAAGGGCACCAGCCCTGGACTTCGCCTGCGACATCTACTGGGCACCTCTGGC
 CGGAATATGCGTGGCACTGCTGAGCCTCATCATCACCCTGATCTGTTATCACCG
 AAGCCGCAAGCGGGTGTGAAAAGTGGAGGCGGAAGCTCTGGGAGGAGTTGAG
 AGTTGCAGAACGAGGAGGTGAAGAACTTGCACCAGCGTCTGGAAGGGCAGCGGC
 10 CAGAGAACAAAGGGCAAGAACCGCTACAAGAACATTCTCCCCTTGACCACAGCGA
 GTGATCCTGCAGGGACGGGACAGTAACATCCCCGGTCCGACTACATCAATGCCAA
 CTACATCAAGAACCAAGCTGCTAGGCCCTGATGAGAACGCTAACGACCTACATGCCA
 GCCAGGGCTGTCGGAGGCCACGGTCAATGACTTCTGGCAGATGGCGTGGCAGGAG
 AACAGCCGTGTCATCGTCATGACCACCCGAGAGGTGGAGAAAGGCCGAAACAAAT
 15 GCGTCCCATACTGGCCCAGGTGGGCATGCAGCGTGCTTATGGGCCCTACTCTGTGA
 CCAACTGCGGGGAGCATGACACAACCGAATACAAACTCCGTACCTACAGGTCTCC
 CCGCTGGACAATGGAGACCTGATTGGGAGATCTGGCATTACCACTGAGCTG
 GCCCGACCACGGGTCCCCAGTGAGCCTGGGGTGTCTCAGCTCCTGGACCAGA
 TCAACCAGCGGCAGGAAAGTCTGCCTCACGCAGGGCCCATCATCGTCAGTGCAGC
 20 GCCGGCATGGCCGCACAGGACCACATTGTATCGACATGCTCATGGAGAACAT
 CTCCACCAAGGGCCTGGACTGTGACATTGACATCCAGAACGACATCCAGATGGTGC
 GGGCGCAGCGCTGGCATGGTCAGACGGAGGCGCAGTACAAGTTCATCTACGTG
 GCCATCGCCCAGTTCATGAAACCACTAACAGAACAGCTGTGA

SEQ ID № 39

25 >MP16091.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-LAIR1tm-
 endo

ATGAGCCTGCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGGCCCTGCTGCTGCACGCCG
 CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCACCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGG
 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGAAC
 30 GTACCAGCAGAACCCGACGGCACCCTGAAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGG
 TGCACAGCGCGTGCCTGCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 CAACACCTGCCCTACACCTTGGAGGCCACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCCG
 GAGGCAGGCTCTGGCGAGGCCGCTCTGGCGAGGCCGCTCTGGCGAGGCCG
 35 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGCCTGGTGGCCCCAACGCCAGAGC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCACGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTGGCGTATCTGGGGCAGCGA
 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 GCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCAGCCATC
 40 TACTACTGCGCCAAGCACTACTATGGCGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCAAGCGCCAGCGCCCGAC
 CACCAACACCGCGCCACCATCGCGTCGAGCCCTGCCCTGCCAGAGGCC
 TGCCGGCCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA
 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTGCTATAGCTTGCTAGT
 45 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACCGAGCAGGGCCAGAACCAAGAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 CGAAGAGAGGAGTACGATGTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCCTGAGATGG
 GGGGAAAGCCGAGAACGAAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAAC
 TGCAGAA

AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGGCCGGAGG
 GGCAAGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
 TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAAATCCCGGCCATGGCGTCCCCACTCAG
 5 GTCCTGGGTTGTTGCTACTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACA
 CAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGCGAGATCGCGTCACCATCACCTGTCGA
 GCAAGTGAGGACATTATTTAATTAGTGTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGGC
 CCCTAACGCTCCTGATCTATGATACAAATCGCTTGGCAGATGGGTCCCACGGTT
 CAGTGGCTCTGGATCTGGCACACAGTATACTCTAACCATAACGCTGCAACCCG
 10 AAGATTCGCAACCTATTATTGTCAACACTATAAGAATTATCCGCTCACGTTGGTC
 AGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAGATCTGGTGGCGAGGGTCAGGAGGCGGAGG
 CAGCGGAGGCAGGTGGCTCGGGAGGCAGGCTCGAGATCTGAGGTGCAGTTGGTG
 GAGTCTGGGGGGGGCTTGGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGGCTCTCCTGTGCAGC
 CTCAGGATTCACTCTCAGTAATTATGGCATGCAGTGGATCAGGCAGGCTCCAGGGA
 15 AGGGTCTGGAGTGGGTCTCGTCTATTAGTCTTAATGGTGGTAGCAGTACTATCGAG
 ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATCTCAGGGACAATGAAAAAGCACCCCTCTAC
 CTTCAAATGAATAGTCTGAGGGCCGAGGACACGGCGTCTATTACTGTGCAGCACA
 GGACGCTTACCGGGAGGTTACTTGATTACTGGGGCCAAGGAACGCTGGTCACAG
 TCTCGTCTATGGATCCCGCACCACAAACCAAGCCCAGCTGCCGGACCCCAAGCCCTG
 20 TGCACCCCTACCGGCACCAGCCAGCCTCAGAGACCCGAGGACTGCCGGCTCGGGC
 AGCGTGAAGGGCACCAGCCTGGACTTCGCTGCGACATTCTCATCGGGTCTCAGT
 GGTCTCCTCTTCTGTCTCCTCCTGGCCTCTTCTGCCCTCCATGCCAGAACATCAG
 ATAAAGCAGGGCCCCCCCAGAACGCAAGGACGAGGAGCAGAACAGCCACAGCAGAGGC
 CTGACCTGGCTGTTGATGTTCTAGAGAGGACAGCAGAACAGGCCACAGTCAATGGA
 25 CTTCCTGAGAAGGACCGGGAGACCGACACCAGCGCCCTGGCTGCAGGGAGTTCCA
 GGAGGTGACGTATGCTCAGCTGGACCCTGGCCCTCACACAGAGGACAGCCCAGGG
 CTGTGTCCCCACAGTCCACAAAGCCCATGGCGAGTCCATCACGTATGCAGCCGTTG
 CCAGACACTGA

SEQ ID № 40

30 >MP16092.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-LAIR1tm-
 endo-2A-PTPN6_SH2-dCD148
 ATGAGCCTGCCGTACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCCCTGCTGCTGCACGCCG
 CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCACCGAGCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGC
 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGGCAGGACATCAGCAAGTACCTGAACCTG
 35 GTACCAGCAGAACCCGACGGCACCCTGAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGGC
 TGACAGCGCGTGCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 CAACACCCCTGCCCTACACCTTGGAGGCAGGCGGCCAACAGCTGGAGATCACCAAGGCCG
 GAGGCAGGCTCTGGCGAGGCAGGCTCTGGCGAGGCAGGCTCTGGCGAGGCAGG
 40 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCAGGCCTGGTGGCCCCAACGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCACGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTGAATCTGGGGCAGCGA
 GACCACCTACTACAACAGCGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 GCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCAGCCATC
 45 TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTATGGCGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCAAGCAGGCCAGCGCCGCGAC
 CACCAACACCGGGGCCACCATCGCGTGCAGCCCTGCCCTGCCAGAGGCC
 TGCCGGCCAGCGGGGGGGCGAGTCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCTGTGA

TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGT
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACCGACAGGCCAGAACCAAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 CGAAGAGAGGAGTACGATTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGG
 5 GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAA
 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCCAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
 TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAAATCCCGGCCCAGGCCGTGCCACTCAG
 10 GTCCTGGGTTGTTGCTACTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACA
 CAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGCGAGATCGCGTCACCATCACCTGTGCA
 GCAAGTGAGGACATTATTTAATTAGTGTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAGGC
 CCCTAACGCTCCTGATCTATGATACAAATCGCTGGCAGATGGGTCCCACCGTT
 CAGTGGCTCTGGATCTGGCACACAGTATACTCTAACCATAAAGTAGCCTGCAACCCG
 15 AAGATTCGCAACCTATTATTGTCAACACTATAAGAATTATCCGCTCACGTTGGTC
 AGGGGACCAAGCTGGAAATCAAAGATCTGGTGGCGGAGGGTCAGGAGGCGGAGG
 CAGCGGAGGCAGGTGGCTCGGGAGGCGGAGGCTCGAGATCTGAGGTGCAGTTGGT
 GAGTCTGGGGGGGGCTTGGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGGCTCTCCTGTGCAGC
 CTCAGGATTCACTCTCAGTAATTATGGCATGCAGTGGATCAGGCAGGCTCCAGGGA
 20 AGGGTCTGGAGTGGGTCTCGTCTATTAGTCTTAATGGTGGTAGCAGTTACTATCGAG
 ACTCCGTGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGGGACAATGAAAAAGCACCCCTCTAC
 CTTCAAATGAATAGTCTGAGGGCCGAGGACACGCCGTCTATTACTGTGCAGCACA
 GGACGCTTACCGGAGGTTACTTGATTACTGGGCCAAGGAACGCTGGTCACAG
 TCTCGTCTATGGATCCGCCACCAACCAAGCCCAGTGCAGGACGGGACCTCAAGGCC
 25 TGCACCCCTACCGGCACCAGCCAGCCTCAGAGACCCGAGGACTGCCGGCCTCGGGC
 AGCGTGAAGGGCACCGGCCTGGACTTCGCTCGACATTCTCATCGGGTCTCAGT
 GGTCTCCTCTCTGTCTCCTCCTGGCCTCTCTGCCTCCATGCCAGAACATCAG
 ATAAAGCAGGGCCCCCAGAACAGCAAGGACGAGGAGCAGAACGCCACAGCAGAGGC
 CTGACCTGGCTGTTGATGTTCTAGAGAGGACAGCAGAACAGGCCACAGTCAATGGA
 30 CTTCCTGAGAAGGACCGGGAGACCGACACCAGCGCCCTGGCTGCAGGGAGTTCCA
 GGAGGTGACGTATGCTCAGCTGGACCCTGGGCCCTCACACAGAGGACAGCCC
 CTGTGTCCCCACAGTCCACAAAGCCATGGCGAGTCCATCACGTATGCAGCCGTTG
 CCAGACACAGGGCAGAACAGGAGGACTGGCTGACTTGCGGGGACGTGGAAGA
 GAACCCAGGGCCATGGTATCATGGCACATGTCTGGCGGGCAGGCAGAGACGCTGC
 35 TGCAGGCCAAGGGCGAGCCCTGGACGTTCTTGTGCGTGAGAGCCTCAGCCAGCCT
 GGAGACTTCGTGCTTCTGTGCTCAGTGACCAGCCCAAGGCTGGCCCAGGCTCCCCG
 CTCAGGGTCACCCACATCAAGGTCATGTGCGAGGGTGGACGCTACACAGTGGTGG
 TTTGGAGACCTTCGACAGCCTCACGGACCTGGTGGAGCATTCAAGAACAGGGGA
 TTGAGGAGGCCTCAGGCGCCTTGTCTACCTGCGGCAGCCGTACAGCGGTGGCGGT
 40 GGCAGCTTGAGGCCTACTTCAAGAACGAGCAAGCTGACTCCAATGTGGGTC
 AGAGGAATACGAAGATCTGAAGCTGTTGGAATTAGTCAACCTAAATATGCAGCAG
 AACTGGCTGAGAACAGGAAAGAACGCTATAATAATGTTCTGCCCTATGATATT
 TCCCCTGTCACACTTCCAGGACCCATTCAACGGATGACTACATCAATGCCAAC
 TACATGCCCTGGCTACCAACTCCAAGAACAGGATTTATTGCCACACAAGGACCTTACCG
 45 AACACTTGAAAGATTGGCGTATGGTTGGAGAAAAATGTATATGCCATCATT
 ATGTTGACTAAATGTGTTGAACAGGAAAGAACCAAATGTGAGGAGTATTGGCCCTC
 CAAGCAGGCTCAGGACTATGGAGACATAACTGTGGCAATGACATCAGAAATTGTT
 TTCCGGAATGGACCACAGAGATTTCAGAGTGTGAAAAATATCCAGACAAGTGAGAGT

CACCCCTCTGAGACAGTTCCATTCAACCTCCTGGCCAGACCACGGTGTCCCCGACACC
 ACTGACCTGCTCATCAACTCCGGTACCTCGTCGTGACTACATGAAGCAGAGTCCT
 CCCGAATGCCGATTCTGGTGCATTGCAGTGCTGGGTGCGAAGGACGGGACTTT
 5 CATTGCCATTGATCGTCTCATCTACCAGATAGAGAACACCGTGGATGTGTA
 TGGGATTGTGTATGACCTTCGAATGCATAGGCCTTAATGGTGCAGACAGAGGACC
 AGTATGTTTCCTCAATCAGTGTGTTGGATATTGTCAGATCCCAGAAAGACTCAA
 AAGTAGATCTTATCTACCAGAACACAAC TGCAATGACAATCTATGAAAACCTTGCG
 CCCGTGACCACATTGGAAAGACCAATGGTTACATGCCAGCGGTAGCTAA

Последовательность нуклеиновой кислоты может кодировать ту же аминокислотную

- 10 последовательность, как та, которую кодирует SEQ ID № 35, 36, 37, 38, 39 или 40, но может иметь отличающуюся последовательность нуклеиновой кислоты из-за вырожденности генетического кода. Последовательность нуклеиновой кислоты может иметь по меньшей мере 80, 85, 90, 95, 98 или 99% идентичности с последовательностью, представленной в качестве SEQ ID № 35, 36, 37, 38, 39 или 40, при условии, что она
- 15 кодирует первый CAR и второй CAR, как определено в первом аспекте изобретения.

ВЕКТОР

Настоящее изобретение также относится к вектору или набору векторов, которые содержат одну или несколько CAR-кодирующих последовательностей нуклеиновых кислот. Такой вектор можно использовать для того, чтобы вводить последовательность (последовательности) нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина с тем, чтобы она экспрессировала первый и второй CAR.

Вектор может представлять собой, например, плазмидный или вирусный вектор, такой как ретровирусный вектор или лентивирусный вектор, или вектор на основе транспозона или синтетическую мРНК.

- 25 Вектор может быть способен к трансфекции или трансдукции Т-клетки.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, которая содержит множество CAR-экспрессирующих клеток, таких как Т-клетки или естественные киллерные клетки, в соответствии с первым аспектом изобретения. Фармацевтическая 30 композиция дополнительно может содержать фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципiente. Фармацевтическая композиция необязательно может содержать один или несколько дополнительных фармацевтически активных полипептидов и/или соединений. Такой состав, например, может быть в форме, подходящей для внутривенной инфузии.

- 35 СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ

Т-клетки по настоящему изобретению могут быть способны уничтожать клетки-мишени, такие как клетки злокачественной опухоли. Клетка-мишень может быть распознана с помощью определенного паттерна антигенной экспрессии, например, экспрессии антигена А И антигена В; экспрессии антигена А ИЛИ антигена В; или 40 экспрессии антигена А И НЕ антигена В или комплексных итераций этих логических элементов.

Т-клетки по настоящему изобретению можно использовать для лечения инфекции, такой как вирусная инфекция.

- 45 Т-клетки по изобретению также можно использовать для управления патогенными иммунными ответами, например, при аутоиммунных заболеваниях, аллергиях и реакциях трансплантат против хозяина.

Т-клетки по изобретению можно использовать для лечения злокачественных заболеваний, таких как злокачественная опухоль мочевого пузыря, злокачественная

опухоль молочной железы, злокачественная опухоль ободочной кишки, злокачественная опухоль эндометрия, злокачественная опухоль почки (клеток почки), лейкоз, злокачественная опухоль легких, меланома, неходжкинская лимфома, злокачественная опухоль поджелудочной железы, злокачественная опухоль предстательной железы и злокачественная опухоль щитовидной железы.

В частности, это подходит для лечения солидных опухолей, когда доступность хороших избирательных одинарных мишней ограничена.

Т-клетки по изобретению можно использовать для того, чтобы лечить:

злокачественные опухоли полости рта и глотки, которые включают злокачественную опухоль языка, рта и глотки; злокачественные опухоли пищеварительной системы, которые включают злокачественные опухоли пищевода, желудка и толстой кишки; злокачественные опухоли печени и желчных протоков, которые включают гепатоцеллюлярные карциномы и холангiocарциномы; злокачественные опухоли дыхательной системы, которые включают бронхогенные злокачественные опухоли и злокачественные опухоли гортани; злокачественные опухоли костей и суставов, которые включают остеосаркому; злокачественные опухоли кожи, которые включают меланому; злокачественную опухоль молочной железы; злокачественные опухоли полового тракта, которые включают злокачественные опухоли матки, яичников и шейки матки у женщин, злокачественные опухоли предстательной железы и яичек у мужчин; злокачественные опухоли мочевыделительной системы, которые включают почечноклеточную карциному и переходно-клеточные карциномы уретры или мочевого пузыря; злокачественные опухоли головного мозга, включая глиомы, мультиформную глиобластому и медуллобластомы; злокачественные опухоли эндокринной системы, включая злокачественную опухоль щитовидной железы, карциному надпочечника, и злокачественные опухоли, связанные с синдромами множественных эндокринных новообразований; лимфомы, включая лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому; множественную миелому и плазмоцитомы; лейкозы, как острые, так и хронические, миелоидные или лимфоидные; и злокачественные опухоли других и неустановленных мест, включая нейробластому.

Лечение с использованием Т-клеток по изобретению может помогать предотвращать ускользание или освобождение опухолевых клеток, которые часто возникают при стандартных подходах.

Далее изобретение дополнительно описано в виде примеров, которые должны служить в качестве помои специалисту в данной области при выполнении изобретения и не предназначены каким-либо образом ограничивать объем изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1 - создание популяций клеток-мишней

С целью подтверждения принципа изобретения произвольно выбирали рецепторы на основании средств против CD19 и против CD33. Используя ретровирусные векторы, клонировали CD19 и CD33. Эти белки усекали с тем, чтобы они не передавали сигнал и могли быть стабильно экспрессированы в течение длительных периодов. Затем эти векторы использовали для трансдукции клеточной линии SupT1, или однократно или двукратно, чтобы создавать клетки, негативные по обоим антигенам (дикого типа), положительные по любому и положительные по обоим. Экспрессионные данные представлены на фиг. 3.

Пример 2 - конструкция и функция логического элемента ИЛИ

Для того чтобы конструировать логический элемент ИЛИ, совместно экспрессировали пару рецепторов, распознающих CD19 и CD33. Различные спайсеры

использовали для того, чтобы предотвращать образование перекрестных пар. Оба рецептора имели трансмембранный домен, полученный из CD28, чтобы повышать поверхностную стабильность, и эндодомен, полученный из такового в CD3 дзета, чтобы предоставлять простой активирующий сигнал. Таким образом, совместно

- 5 экспрессировали пару независимых CAR первого поколения. В ретровирусной векторной кассете, используемой для того, чтобы совместно экспрессировать последовательности, используют саморасщепляющийся пептид 2A вируса ящура, чтобы сделать возможным коэкспрессию обоих рецепторов 1:1. Конструкция кассеты показана на фиг. 4, а структуры белков на фиг. 5. В нуклеотидную последовательность гомологичных
- 10 областей вносили неоднозначность кодонов для того, чтобы предотвращать рекомбинацию во время обратной транскрипции ретровирусного вектора.

Пример 3 - тестирование логического элемента ИЛИ

- Экспрессию обоих CAR тестировали на поверхности Т-клеток посредством окрашивания когнатным антигеном, слитым с Fc. Используя Fc домены различных видов (мышиные для CD19 и кроличьи для CD33), коэкспрессию обоих CAR определяли на клеточной поверхности посредством окрашивания различными вторичными антителами, конъюгированными с различными флуорофорами. Это показано на фиг. 6.

- Затем осуществляли функциональное тестирование с использованием линии Т-клеток мыши BW5147. Эта клеточная линия секretирует IL-2 при активации, что делает возможным простое количественное считывание. Эти Т-клетки совместно культивировали с возрастающими количествами искусственных клеток-мишеней, описанных выше. Т-клетки реагировали на клетки-мишени, экспрессирующие их антиген, как показано с помощью секреции IL-2, измеряемой посредством ELISA. Показана экспрессия обоих CAR на клеточных поверхностях и показано, что Т-клетки реагировали на любой или оба антигена. Эти данные представлены на фиг. 7.

Пример 4 - конструкция и функция логического элемента И

- Логический элемент И объединяет простой активирующий рецептор с рецептором, который осуществляет базовое ингибирование активности, но у которого ингибирование выключается, когда рецептор лигирован. Этого достигали посредством объединения стандартного CAR первого поколения с коротким/некрупным спейсером из «стебля» CD8 и дзета-эндодоменом CD3 со вторым рецептором с крупным Fc спейсером, эндодомен которого содержал или эндодомен CD148 или эндодомен CD45. Когда оба рецептора лигированы, различия в размерах спейсеров ведут к выделению различных рецепторов в различные мембранные компартменты, устраниению ингибирования CD3 дзета рецептора с помощью эндодоменов CD148 или CD45. Таким образом, активация происходит только когда активируют оба рецептора. Для этого выбрали CD148 и CD45, поскольку они функционируют так нативным образом: например, очень крупный CD45 эктодомен исключает весь рецептор из иммунологического синапса. Экспрессирующая кассета изображена на фиг. 8 и последующие белки на фиг. 9.

Окрашивание поверхности по другой специфичности демонстрировало, что обе пары рецепторов могут быть эффективно экспрессированы на клеточной поверхности, представленной на фиг. 10. Функционирование в BW5147 показывает, что активация Т-клеток происходит только в присутствии обоих антигенов (фиг. 11).

- 45 Пример 5: демонстрация генерализуемости логического элемента И

Чтобы гарантировать, что наблюдения не представляли собой манифестацию некоторой конкретной характеристики CD19/CD33 и использованных их связывающих средств, два направленных scFv меняли местами так, что после этого передача

активирующего (ITAM) сигнала происходила при распознавании CD33 вместо CD19; а передача ингибирующего (CD148) сигнала происходила при распознавании CD19 вместо CD33. Поскольку эндодомены CD45 и CD148 считают функционально схожими, эксперименты ограничивали логическими элементами И с эндодоменом CD148. Это

- 5 все еще должно давать функциональный логический элемент И. Т-клетки, экспрессирующие новый логический элемент, стимулировали мишениями, несущими отдельно CD19 или CD33 или их оба. Т-клетки отвечали на мишени, экспрессирующие как CD19, так и CD33, но не на мишени, экспрессирующие только один или ни одного из этих антигенов. Это демонстрирует, что логический элемент И все еще функционален
- 10 в этом формате (фиг. 18B).

На тех же линиях предполагали установить, насколько генерализуемым является логический элемент И: логический элемент И должен быть генерализуемым среди различных мишней. Хотя может иметь место меньшая или большая точность логического элемента с учетом относительной антигенной плотности, кинетики

- 15 когнатного связывания scFv и конкретного расстояния до связывающего эпитопа scFv, следует ожидать увидеть некоторые манифестации логического элемента И с широким набором мишней и связывающих средств. Для того чтобы тестировать это, создавали три дополнительных логических элемента И. Еще раз, эксперименты ограничивали версией логического элемента И с CD148. Второй scFv из исходного логического
- 20 элемента И с CD148 заменяли на scFv huK666 против GD2 (SEQ ID 41 и SEQ ID 42) или на scFv против CD5 (SEQ ID 43 и SEQ ID 44) или scFv MR1.1 против EGFRvIII (SEQ ID 45 И SEQ ID 46) для того, чтобы создавать следующие CAR логические элементы И: CD19 И GD2; CD19 И CD5; CD19 И EGFRvIII. Также создавали следующие искусственные экспрессирующие антиген клеточные линии: посредством трансдукции SupT1 и
- 25 SupT1.CD19 по изобретению синтазами GM3 и GD2 создавали SupT1.GD2 и SupT1.CD19.GD2. Посредством трансдукции SupT1 и SupT1.CD19 ретровирусным вектором, кодирующими EGFRvIII, создавали SupT1.EGFRvIII и SupT1.CD19.EGFRvIII. Поскольку CD5 экспрессирован на клетках SupT1, использовали другую клеточную линию для того, чтобы создавать клетки-мишени: создавали 293T клетки, которые
- 30 экспрессируют только CD19, только CD5 и вместе CD5 и CD19. Экспрессию подтверждали с помощью проточной цитометрии (фиг. 19). Т-клетки, экспрессирующие три новых CAR логических элемента И, стимулировали с использованием SupT1.CD19 и соответствующих когнатных двойных положительных и одинарных положительных клеток-мишней. Все три логических элемента И демонстрировали пониженную
- 35 активацию двойными положительными клеточными линиями в сравнении с одинарными положительными мишениями (фиг. 20). Это демонстрирует генерализуемость конструкции логического элемента И на произвольные мишени и когнатные связывающие средства.

Пример 6: экспериментальное подтверждение модели кинетической сегрегации CAR логического элемента И

- 40 Цель заключалась в подтверждении моделированием того, что дифференциальная сегрегация, обусловленная различными спайсерами, представляет собой центральный механизм, лежащий в основе способности генерировать эти CAR логические элементы. Модель представляет собой то, что если лигирован только активирующий CAR, сильный ингибирующий «выключаемый лигированием» CAR находится в растворе в мембране
- 45 и может ингибировать активирующий CAR. Когда лигированы оба CAR, если оба CAR спайсера достаточно различны, они будут сегрегироваться в синапсе и не локализоваться совместно. Таким образом, ключевое требование состоит в том, чтобы спайсеры было достаточно различными. Если модель верна, если оба спайсера достаточно схожи, что

они были совместно локализованы, когда оба рецептора лигированы, логический элемент не сможет функционировать. Для того чтобы тестировать это, «крупный» Fc спейсер в исходном CAR заменяли на мышиный CD8 спейсер. Предсказано, что он имеет схожую длину, объем и заряд с CD8 человека, но при этом не образует перекрестных пар с ним. Таким образом, новый логический элемент имел первый CAR, который распознает CD19, спейсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; тогда как второй CAR распознает CD33, имеет спейсер «стебля» CD8 мыши и эндодомен CD148 (фиг. 18C). Т-клетки трансдуцировали для того, чтобы экспрессировать этот новый CAR логический элемент. Затем эти Т-клетки стимулировали клетками SupT1, экспрессирующими только CD19, только CD33 или оба CD19 и CD33 вместе. Т-клетки не отвечали на клетки SupT1, экспрессирующие любой антиген отдельно, как и исходный логический элемент И. Однако CAR T-клетки не могли отвечать на клетки SupT1, экспрессирующие оба антигена, тем самым подтверждая модель (фиг. 18C). Для функционального логического элемента И необходимо, чтобы оба CAR имели спейсеры, достаточно различные, чтобы они не локализовались совместно в иммунологическом синапсе (фиг. 23A и B).

Пример 7 - Конструкция и функция логического элемента И НЕ

Фосфатазы, такие как CD45 и CD148, достаточно активны, чтобы даже малое количество, входящее в иммунологический синапс, могло ингибировать ITAM активацию. Это является основной ингибирования логического элемента И. Другие классы фосфатаз не настолько активны, например, PTPN6 и родственные фосфатазы. Предсказано, что небольшое количество PTPN6, попадающее в синапс посредством диффузии, не будет ингибировать активацию. Кроме того, предсказано, что если ингибирующий CAR имеет достаточно схожи спейсер с активирующим CAR, они могут локализоваться совместно в синапсе, если оба CAR лигированы. В этом случае большие количества ингибирующего эндодомена будут достаточны для того, чтобы останавливать ITAM активацию, когда оба антигена присутствуют. Таким образом, можно создавать логический элемент И НЕ.

Для логического элемента НЕ И второй сигнал должен запрещать активацию. Это выполняют посредством привнесения ингибирующего сигнала в иммунологический синапс, например, посредством привнесения фосфатазы фермента, такого как PTPN6. Таким образом, авторы изобретения создавали начальный логический элемент И НЕ следующим образом: совместно экспрессировали два CAR, где первый распознает CD19, имеет спейсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; и CAR против CD33 со спейсером «стебля» CD8 мыши и эндодоменом, который содержит каталитический домен из PTPN6 (SEQ ID 38, фиг. 13A и B). На фиг. 12 представлена подходящая кассета, а на фиг. 14 представлены предварительные функциональные данные.

Кроме того, для создания логического элемента И НЕ разрабатывали альтернативную стратегию. Иммунорецепторные тирозиновые ингибирующие мотивы (ITIM) активировали подобно ITAM в том отношении, что они становятся фосфорилированными с помощью lck при кластеризации и исключении фосфатаз. Взамен запуска активации посредством связывания ZAP70, фосфорилированные ITIM привлекают фосфатазы, такие как PTPN6, через их когнитивные домены SH2. ITIM может выполнять функцию ингибирующего эндодомена до тех пор, пока спейсеры на активирующих и ингибирующих CAR могут локализоваться совместно. Для того чтобы создать эту конструкцию, логический элемент И НЕ создавали следующим образом: совместно экспрессировали два CAR - первый распознает CD19, имеет спейсер «стебля»

CD8 человека и активирующий эндодомен; и CAR против CD33 со спайсером «стебля» CD8 мыши и ITIM-содержащим эндодоменом, полученным из такового из LAIR1 (SEQ ID 39, фиг. 13A и С).

Также разрабатывали более сложный логический элемент И НЕ также, посредством

- 5 чего ITIM усиливали с помощью присутствия дополнительного химерного белка: внутриклеточное слияние домена SH2 из PTPN6 и эндодомена из CD148. В этой конструкции экспрессируют три белка - первый распознает CD19, имеет спайсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; совместно экспрессировали с CAR против
- 10 CD33 со спайсером «стебля» CD8 мыши и ITIM-содержащим эндодоменом, полученным из такового из LAIR1. Дополнительный пептид 2A делает возможной коэкспрессию слитного белка PTPN6-CD148 (SEQ ID 40, фиг. 13A и D). Предсказано, что эти логические элементы И НЕ будут иметь различный диапазон ингибирования: PTPN6-CD148 > PTPN6 >> ITIM.

Т-клетки трансдуцировали с использованием этих логических элементов и

- 15 стимулировали мишениями, экспрессирующими отдельно CD19 или CD33 или оба CD19 и CD33 вместе. Все три логических элемента отвечали на мишени, экспрессирующие только CD19, но не мишени, экспрессирующие оба CD19 и CD33 вместе (фиг. 21), что подтверждало, что все три логических элемента И НЕ были функциональны.

Пример 8: экспериментальное подтверждение модели кинетической сегрегации

- 20 логического элемента И НЕ на основе РТРН6.

Модель логического элемента И НЕ основана на том факте, что свойства спайсеров, используемых в обоих CAR, являются ключевыми для правильного функционирования логического элемента. В функциональном логическом элементе И НЕ с использованием PTPN6, оба спайсера CAR достаточно схожи, чтобы, когда оба CAR лигированы, оба 25 совместно локализовались в синапсе, так что высокая концентрация даже слабой PTPN6 является достаточной для того, чтобы ингибировать активацию. Если спайсеры различны, сегрегация в синапсе будет изолировать PTPN6 от ITAM, что делает возможной активацию, нарушающую логический элемент И НЕ. Для того чтобы тестировать это, создавали контроль, в котором заменяли мышьиный спайсер из «стебля» 30 CD8 на таковой из Fc. В этом случае, тестовый логический элемент состоял из двух CAR, первый распознает CD19, имеет спайсер «стебля» CD8 человека и ITAM эндодомен; тогда как второй CAR распознает CD33, имеет Fc спайсер и эндодомен, состоящий из фосфатазы из PTPN6. Этот логический элемент активирует в ответ на CD19, но также активирует в ответ на CD19 и CD33 вместе (фиг. 22В, где функционирование этого 35 логического элемента сравнивают с таковой у исходного И НЕ и контрольного варианта логического элемента И, описанного в примере 6). Эти экспериментальные данные подтверждают модель, в которой для функционального логического элемента И НЕ с использованием PTPN6 необходимы совместно локализующие спайсеры.

Пример 9: экспериментальное подтверждение модели кинетической сегрегации

- 40 логического элемента И НЕ на основе ITIM.

Подобно логическому элементу И НЕ на основе PTPN6, для логического элемента на основе ITIM также необходима совместная локализация в иммунологическом синапсе, чтобы функционировать в качестве логического элемента И НЕ. Чтобы подтвердить эту гипотезу, создавали контрольный логический элемент на основе ITIM следующим 45 образом: совместно экспрессировали два CAR - первый распознает CD19, имеет спайсер «стебля» CD8 человека и активирующий эндодомен; второй CAR против CD33 с Fc спайсером и ITIM-содержащим эндодоменом, полученным из такового из LAIR1.

Активность этого логического элемента сравнивали с таковой у исходного логического

элемента И НЕ на основе ITIM. В этом случае активация модифицированного логического элемента происходила в ответ на мишени, экспрессирующие CD19, но также происходила в ответ на клетки, экспрессирующие оба CD19 и CD33. Эти данные показывают, что логические элементы И НЕ на основе ITIM придерживаются модели, основанной на кинетической сегрегации, и правильный спейсер следует выбирать для того, чтобы создавать функциональный логический элемент (фиг. 23В).

Пример 10: краткое описание модели логических элементов CAR, созданной посредством кинетической сегрегации

На основании текущего понимания модели кинетической сегрегации и

- 10 экспериментальных данных, описанных в настоящем документе, краткое описание модели для логического элемента из двух CAR представлено на фиг. 24. На фиг. Показана клетка, которая экспрессирует два CAR, каждый распознает отличающийся антиген. Когда любой один или оба CAR распознают антиген-мишень на клетке, происходит формирование синапса и исключение нативных CD45 и CD148 из синапса
- 15 из-за массивности их эктодомена. Это задает основу для активации Т-клеток. В том случае, когда клетка-мишень несет только один когнатных антиген, когнатный CAR лигирован и когнатный CAR сегрегируется в синапсе. Нелигированный CAR остается в растворе на мембране Т-клетки и может диффундировать в синапс и из него с тем, чтобы произошло формирование области высокой локальной концентрации
- 20 лигированного CAR с низкой концентрацией нелигированного CAR. В этом случае, если лигированный CAR имеет ITAM и нелигированный CAR имеет ингибирующий эндодомен «выключаемого лигированием», типа такой как таковой из CD148, количество нелигированного CAR является достаточным для того, чтобы ингибировать активацию и выключать логический элемент. В отличие от этого, в том случае, если лигированный
- 25 CAR имеет ITAM и нелигированный CAR имеет ингибирующий эндодомен «включаемого лигированием» типа, такой как PTPN6, количество нелигированного CAR является недостаточным для того, чтобы осуществлять ингибирование, и логический элемент включен. Когда стимулируют клеткой-мишенью, несущей оба когнатных антигена, оба когнатных CAR лигированы и образуют часть иммунологического синапса. Важно,
- 30 если CAR спейсеры достаточно схожи, CAR совместно локализованы в синапсе, но если CAR спейсера достаточно различны, CAR сегрегируются внутри синапса. В этом последнем случае, происходит формирование областей мембранны, в которых присутствуют высокие концентрации одного CAR, но другой CAR отсутствует. В этом случае, поскольку сегрегация выполнена, даже если ингибирующий эндодомен относится
- 35 к «выключаемому лигированием» типу, логический элемент включен. В первом случае, происходит формирование областей мембранны с высокими концентрациями обоих CAR, смешанных вместе. В этом случае, поскольку оба эндодомена концентрированы, даже если ингибирующий эндодомен относится ко «включаемому лигированием» типу, логический элемент выключен. Посредством отбора в CAR Т-клетке можно
- 40 программировать правильную логическую комбинацию спейсера и эндодомена.

На основании вышеописанной работы авторов изобретения, они установили ряд правил разработки для того, чтобы сделать возможным поколение CAR для логических элементов (проиллюстрировано на фиг. 31). Для того чтобы создавать Т-клетку с CAR логическим элементом «антиген А ИЛИ антиген В», следует создавать CAR против А и против В так, что (1) каждый CAR имеет спейсер, который делает возможным легкий доступ к антигену и формирование синапса так, что CAR функционирует, и (2) каждый CAR имеет активирующий эндодомен; для того чтобы генерировать Т-клетку с CAR логическим элементом «антиген А И НЕ В», CAR против А и против В следует создавать

так, что (1) оба CAR имеют спейсеры, которые не образуют перекрестных пар, но которые допускают совместную сегрегацию CAR при распознавании обоих когнатных антигенов на клетке-мишени, (2) и один CAR имеет активирующий эндодомен, тогда как другой CAR имеет эндодомен, который содержит или рекрутирует слабую фосфатазу (например, PTPN6); (3) для того чтобы генерировать Т-клетку с CAR логическим элементов «антиген А И антиген В», следует создавать CAR против А и против В так, что (1) один CAR имеет спейсер, достаточно отличающийся от другого CAR так, что оба CAR не будет совместно сегрегироваться при распознавании обоих когнатных антигенов на клетке-мишени, (2) один CAR имеет активирующий эндодомен, тогда как другой CAR имеет эндодомен, который состоит из сильной фосфатазы (например, таковой из CD45 или CD148). Правильные спейсеры для достижения желаемого эффекта можно выбирать из набора спейсеров с известными размером/геометрической формой и т.п., а также принимая во внимание размер/геометрическую форму и т.п. антигена-мишени (например, см. фиг. 30) и местоположение когнатного эпитопа на антигене-мишени.

SEQ ID № 41: SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aGD2-HCH2CH3pvaa-dCD148

MSLPVTALLPLALLHAARPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQ
 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLQEEDIATYFCQQGNTLPYTF
 GGGTKLEITKAGGGGGGGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 20 SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
 TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAHVTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAEGRGSL
 25 LTCGDVEENPGPMETDTLLWVLLWVPGSTGQVQLQESGPGLVKPSQTLSITCTVSGF
 SLASYNIHWRQPPGKGLEWLGVIWAGGSTNYNSALMSRLTISKDNSKNQVFLKMSSL
 TAADTAVYYCAKRSDDYSWFAYWGQGTLTVSSGGGGGGGGGGSENQMTQSP
 SSLSASVGDRVTMTCRASSSVSSSYLHWYQQKSGKAPKVWIYSTSNLASGVPSRFSGSG
 SGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYSGYPITFGQGTKVEIKRSDPAEPKSPDKTHTCPPCP
 30 APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKAVFGCIFGALVIV
 TVGGFIFWRKKRKDAKNNEVSFSQIKPKKSKLIRVENFEAYFKKQQQADSNCFAEYED
 35 LKLVGISQPKYAAELAENRGKNRYNNVLPYDISRVKLSVQTHSTDDYINANYMPGYHS
 KKDFIATQGPLPNTLKDFWRMVWEKNVYAIIMLTKCVEQGRTKCEEYWPSKQAQDYG
 DITVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSESHPLRQFHFTSWPDHGVPDTTDLLINFRLV
 DYMKQSPPESPILVHCSAGVGRGTFTAIDRLIYQIENENTDVYGIVYDLRMHRPLMVQ
 TEDQYVFLNQCVL DIVRSQKDSKVDLIYQNTTAMTIYENLAPVTTFGKTNGYIA
 40 SEQ ID № 42: SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aGD2-HCH2CH3pvaa-dCD148
 ATGAGCCTGCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGGCCCTGCTGCACGCC
 CCAGACCAGACATCCAGATGACCCAGACCAGCACAGCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGC
 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGA
 ACTG
 GTACCAGCAGAACGCCAGGGCACCGTGAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCC
 45 TGCACAGCGCGTGCCTGCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 CAACACCCCTGCCCTACACCTCGGAGGCCAGCAAGCTGGAGATCACCAAGGCC
 GAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCCAGGCTCTGGCGGAGGCCAGGCTCTGGCGGAGGCC

CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGCCTGGTGGCCCCAAGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCACGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGGGCAGCGA
 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 5 GCAAGAGCCAGGTGTT CCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCATC
 TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTATGGCGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCACGACGCCAGCGCCGCGAC
 CACCAACACCGGCCACCATCGCGTCGAGCCCTGCCCCGAGAGCG
 TGCCGGCCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA
 10 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTGCTATAGCTGCTAGT
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACCAAGCAGGCCAGAACAGCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 CGAAGAGAGGAGTACGATTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCCTGAGATGG
 GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAAC TG CAGAA
 15 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCCAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAAGGGCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
 TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAAATCCCGGCCATGGAGACCACCCCTG
 CTGCTGTGGGTGCTGCTGTGGAGGCCAGGCAGCACCGGCCAGGTGCAGCTGCA
 20 GGAGTCTGGCCCAGGCCTGGTAAGCCCAGCCAGACCTGAGCATCACCTGCACCG
 TGAGCGGCTTCAGCCTGCCAGCTACAACATCCACTGGGTGCGGCAGCCCCCAGGC
 AAAGGGCCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGCTGGCGCAGCACCAACTAACACAG
 CGCCCTGATGAGCCGGCTGACCATCAGCAAGGACAACAGCAAGAACCCAGGTGTTCC
 TGAAGATGAGCAGCCTGACAGCCGCCACCCGCCGTGACTACTTGCGCCAAGCGG
 25 AGCGACGACTACAGCTGGTCGCCTACTGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAG
 CTCTGGCGGAGGCCGGCTCTGGCGGAGGCAGCTGGCGGAGGCAGCGAGAAC
 CAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCTTGAGCGCCAGCGTGGCGACCGGGTACCAT
 GACCTGCAGAGCCAGCAGCAGCGTGGAGCAGCTACCTGCACTGGTACAGCAGA
 AGAGCGGCAAGGCCCAAAGGTGTGGATCTACAGCACCAAGCAACCTGGCCAGCGG
 30 CGTGCCAGCCGGTTAGCGGCAGCGGCAGCGCACCGACTACACCCCTGACCATCA
 GCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCGGCTAC
 CCCATCACCTCGGCCAGGGACCAAGGTGGAGATCAAGCGGTGGATCCGCCGA
 GCCCAAATCTCCTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTCCGTGGC
 CGGCCCGTCAGTCTCCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATGCCCG
 35 GACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCA
 AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGG
 GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGAGCAGCGTCCCTCACCGTCTGCACCA
 GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAG
 CCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTG
 40 TACACCCCTGCCCATCCGGATGAGCTGACCAAGAACCGTCAGCCTGACCTG
 CCTGGTCAAAGGCTCTATCCAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGGC
 AACCGGAGAACAACTACAAGACACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC
 TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGACAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTT
 CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAATCTCTGAG
 45 TCTGAGCCAGGCAAGAAGGACCCAAAGGCAGTTTGAGCTGTATCTTGAGGCCCT
 GGTTATTGTGACTGTGGAGGCTCATCTCTGGAGAAAGAAGAGGAAAGATGCAA
 AGAATAATGAAGTGTCCCTTCTCAAATTAAACCTAAAAATCTAAGTTAATCAGAG
 TGGAGAATTGAGGCCTACTCAAGAAGCAGCAAGCTGACTCCAAGTGTGGGTTC

GCAGAGGAATACGAAGATCTGAAGCTTGTGGAATTAGTCACCTAAATATGCAGC
 AGAACTGGCTGAGAATAGAGGAAAGAACCGCTATAATAATGTTCTGCCCTATGATA
 TTTCCCGTCAAACCTTCGGTCCAGACCCATTCAACGGATGACTACATCAATGCCA
 ACTACATGCCTGGCTACCACTCCAAGAAAGATTTATTGCCACACAAGGACCTTAC
 5 CGAACACTTGAAAGATTTGGCGTATGGTTGGAGAAAAATGTATATGCCATCA
 TTATGTTGACTAAATGTGTTGAACAGGGAAAGAACCAAATGTGAGGAGTATTGGCCC
 TCCAAGCAGGCTCAGGACTATGGAGACATAACTGTGGCAATGACATCAGAAATTGT
 TCTTCCGGAATGGACCACAGAGATTCACAGTAAAAATCCAGACAAGTGAGA
 GTCACCCCTCTGAGACAGTCCATTACCTCCTGCCAGACCACGGTGTCCCCGACA
 10 CCACTGACCTGCTCATCAACTTCCGGTACCTCGTCGTACTACATGAAGCAGAGTC
 CTCCCAGAATCGCCGATTCTGGTGCATTGCAGTGCAGTGGGGCGGAAGGACGGGCACT
 TTCATTGCCATTGATCGTCTCATCTACCAGATAGAGAATGAGAACACCGTGGATGTG
 TATGGGATTGTGTATGACCTTCGAATGCATAGGCCTTAATGGTGCAGACAGAGGA
 CCAGTATGTTTCCCAATCAGTGTGTTGGATTGTCAAGATCCCAGAAAGACTC
 15 AAAAGTAGATCTTATCTACCAGAACACAACACTGCAATGACAATCTATGAAAACCTTG
 CGCCCCTGACCACATTGGAAAGACCAATGGTTACATGCCCTAA
 SEQ ID № 43: SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD5-HCH2CH3pvaa-dCD148
 MSLPVTLALLPLALLHAARPDIQMTQTTSSLSASLGRVTISCRASQDISKYLNWYQ
 QKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
 20 GGGTKLEITKAGGGSGGGSGGGSGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETYYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
 TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWQQGTSVTSSDPTTPAPRPPPTAPIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 ADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 25 KDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAEGRGSL
 LTCGDVEENPGPMETDTLLWVLLWVPGSTGQVTLKESGPGLKPSQTLSTCSFSGFS
 LSTSGMGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDVYNNPSLKNQLTISKDASRDQVFLKITN
 LDTADTATYYCVRRATGTGFDYWGQGTTLVSSGGGSGGGGSGGGSNIVMTQSH
 KFMSTSVGDRVSIACKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWTSTRHTGPDRFTGSG
 30 SGTDFTLTITNVQSEDLADYFCHQYNSYNTFGSGTRLELKRSDPAEPKSPDKHTCPPCP
 APPVAGPSVFLFFFPKPKDTLMIAARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAWEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFL
 YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKAVFGCIFGALVIV
 35 TVGGFIFWRKKRKDAKNNEVSFSQIKPKKSKLIRVENFEAYFKKQQADSNCFAEYED
 LKLVGISQPKYAAELAENRGKNRYNNVLPYDISRVKLSVQTHSTDDYINANYMPGYHS
 KKDFIATQGPLPNTLKDFWRMVWEKNVYAIIMLTCKVEQGRTKCEEWPSKQAQDYG
 DITVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSEHPLRQFHFTSWPDHGPVDPDLLINFRLVLR
 DYMKQSPPESPILVHCSAGVGRGTFTAIDRLIYQIENENTVDVYGINVYDLRMHRPLMVQ
 40 TEDQYVFLNQCVL DIVRSQKDSKVDLIYQNTTAMTIYENLAPVTTFGKTNGYIA
 SEQ ID № 44: SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD5-HCH2CH3pvaa-dCD148
 ATGAGCCTGCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCCCTGCTGCTGACGCC
 CCAGACCAAGACATCCAGATGACCCAGACCAACCAAGCAGCCTGAGGCCAGCCTGGC
 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGAACCTG
 45 GTACCAGCAGAAGCCCACGGCACCCTGAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGGC
 TGCACAGCGCGTGCCAGCCGGTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG
 CAACACCCCTGCCCTACACCTCGGAGGCAGGACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCCG

GAGGC GGAGGCTCTGGCGGAGGC GGCTCTGGCGGAGGC GGCTCTGGCGGAGGC GG
 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGC CTGGTGGCCCCAAGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGGCGTGAGCCTGCCACTACGGCGTGAGCTGG
 ATCAGGCAGCCCCCACGGAAGGGCCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGGGCAGCGA
 5 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 GCAAGAGCCAGGTGTT CCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCATC
 TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTATGGCGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCACGACGCCAGCGCCGCGAC
 CACCAACACCGGCCACCACATCGCTCGCAGGCCCTGTCCTGCGCCAGAGGCG
 10 TGCCGGCCAGCGCGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA
 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTGCTATAGCTTGCTAGT
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACCGACAGGCCAGAACAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 CGAAGAGAGGAGTACGATTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCTGAGATGG
 15 GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAA
 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCCAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGCACGATGGCCTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGGAAGTC
 TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAAATCCCGGCCATGGAGACCGACACCCCTG
 20 CTGCTGTGGGTGCTGCTGTGGTGCCGGCAGCACCGGCCAGGTGACCCCTGAA
 GGAGAGCGGTCCCGGCATCCTGAAGCCCAGCCAGACCCCTGAGCCTGACCTGCAGCT
 TCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACCAGCGGATGGCGTGGACGACGACGTGTACTA
 AGCGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCCCACATCTGGTGGACGACGACGTGTACTA
 CAACCCCAGCCTGAAGAACCAAGAGCTGACCATCAGCAAGGACGCCAGCCGGGACCAAG
 25 GTGTT CCTGAAGATCACCAACCTGGACACCGCCACCCGCCACCTACTACTGCGTG
 CGGCGCCGGGCCACCAGCACCGGCTTCAGACTACTGGGCCAGGGCACCACCCCTGAC
 CGTGAGCAGCGGTGGCGGTGGCAGCGGCCGGCGGAAGCGGAGGTGGCAGC
 AACATCGTGTGACCCAGAGCCACAAGTTCATGAGCACCAGCGTGGCGACCGGGT
 GAGCATCGCCTGCAAGGCCAGGCCAGGACGTGGCACCGCCGTGGCCTGGTACCAAGC
 30 AGAACGCTGGCCAGAGCCCCAACGCTGCTGATCTACTGGACCAGCACCCGGCACACC
 GGCCTGCCGACCGGTTCACCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCAT
 CACCAACGTGCAAGCGAGGACCTGGCCACTACTTCTGCCACCAAGTACAACAGCT
 ACAACACCTCGGCAGCGGCACCCGGCTGGAGCTGAAGCGGTGGATCCGCCAG
 CCCAAATCTCCTGACAAA ACTCACACATGCCAACCGTGGCAGCACCTCCGTGGCC
 35 GGCCCGTCAGTCTCCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCCTCATGATGCCCGG
 ACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAA
 GTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCC
 AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAG
 GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGC
 40 CCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT
 ACACCCCTGCCCTCATCCGGATGAGCTGACCAAGAACCGGTACGCCCTGACCTGC
 CTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCA
 ACCGGAGAACAAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGGACTCCGACGGCTCCTTCT
 TCCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTTC
 45 TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCACTATAACCCAGAAATCTCTGAGT
 CTGAGCCCAGGCAAGAAGGACCCAAAGGC GGTTTGCGTGTATCTTGGTGCCTG
 GTTATTGTGACTGTGGAGGCTTCATCTGGAGAAAGAAGAGGAAAGATGCAA
 GAATAATGAAGTGTCCCTTTCTCAAATTAAACCTAAAAAATCTAAGTTAATCAGAGT

GGAGAATTTGAGGCCTACTCAAGAACGCAAGCTGACTCCAAGTGGGTCG
 CAGAGGAATACGAAGATCTGAAGCTTGGATTAGTCAACCTAAATATGCAGCA
 GAACTGGCTGAGAATAGAGGAAAGAACGCTATAATAATGTTCTGCCCTATGATAT
 TTCCCCTGTCAAACCTTCGGTCCAGACCCATTCAACGGATGACTACATCAATGCCAA
 5 CTACATGCCTGGCTACCCTCAAGAAAGATTATTGCCACACAAGGACCTTACC
 GAACACTTGAAAGATTGGCGTATGGTTGGGAGAAAATGTATATGCCATCAT
 TATGTTGACTAAATGTGTTGAACAGGGAAAGAACCAAATGTGAGGAGTATTGCCCT
 CCAAGCAGGCTCAGGACTATGGAGACATAACTGTGGCAATGACATCAGAAATTGTT
 CTTCCGGAATGGACCACATCAGAGATTTCACAGTAAAAAATATCCAGACAAGTGAGAG
 10 TCACCCCTCTGAGACAGTCCATTCACCTCCTGCCAGACCACGGTGTCCGACAC
 CACTGACCTGCTCATCAACTCCGGTACCTCGTGTGACTACATGAAGCAGAGTCC
 TCCCGAATGCCGATTCTGGTGCATTGCAGTGCTGGGTCGGAAGGACGGGACTT
 TCATTGCCATTGATCGTCTCATCTACCAGATAGAGAATGAGAACACCGTGGATGTGT
 ATGGGATTGTGTATGACCTTCGAATGCATAGGCCCTTAATGGTGCAGACAGAGGAC
 15 CAGTATGTTTCTCAATCAGTGTGTTGGATATTGTCAGATCCCAGAAAGACTCA
 AAAGTAGATCTTATCTACCAGAACACAACGTCAATGACAATCTATGAAAACCTTGC
 GCCCGTGACCACATTGAAAGACCAATGGTACATGCCCTAA

SEQ ID № 45: SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aEGFRvIII-HCH2CH3pvaa-dCD148

MSLPVTLALLPLALLHAARPDIQMTQTTSSLASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQ
 20 QKPDGTVKLIIYHTSRLHSGVPSRFSGSQTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
 GGGTKLEITKAGGGGGGGGGGGGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGV
 SLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQ
 TDDTAIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSVTSSDPTTPAPRPPPTPAPTIASQPLSLR
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIFWVLVVVGVLACYSLTVAFIIFWVRRVKFSRS
 25 ADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ
 KDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRAEGRGSL
 LTCGDVEENPGPMETDTLLWVLLWVPGSTGQVKLQQSGGGLVPGASLKLSCVTSG
 FTFRKFGMSWVRQTSKDRLEWVASISTGGYNTYSDNVKGRFTISRENAKNTLYLQMS
 SLKSEDTALYYCTRGYSSTSAMDYWGQGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGDIELTQS
 30 PASLSVATGEKVTIRCMTSTDIDDDMNWYQQKPGEPPKFLISEGNTLRPGVPSRFSSSGT
 GTDFVFTIENTLSEDVGDDYCLQSFNVPLFGDGTKLEIKRSDPAEPKSPDKHTCPPCP
 APPVAGPSVFLFPPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNFNWYVDGVEVHNAKT
 KPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
 35 YSKLTVDKSRWQQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKAVFGCIFGALVIV
 TVGGFIFWRKKRKDAKNNEVSFSQIKPKKSKLIRVENFEAYFKKQQQADSNCGFAEYED
 LKLVGISQPKYAAELAENRGKNRYNNVLPYDISRVKLSVQTHSTDYINANYMPGYHS
 KKDFIATQGPLPNTLKDFWRMVWEKNVYAIIMLTCKVEQGRTKEEYWPSKQAQDYG
 DITVAMTSEIVLPEWTIRDFTVKNIQTSESHPLRFHFTSWPDHGVPDTEPLLINFRLV
 40 DYMKQSPPESPILVHCSAGVGRGTFTAIDRLIYQIENENTDVYGIVYDLRMHRPLMVQ
 TEDQYVFLNQCVL DIVRSQKDSKVDLIYQNTTAMTIYENLAPVTTFGKTNGYIA

SEQ ID № 46: SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aEGFRvIII-HCH2CH3pvaa-dCD148

ATGAGCCTGCCGTACCGCCCTGCTGCTGCCCTGCCCTGCTGCTGCACGCC
 CCAGACCAAGACATCCAGATGACCCAGACACCACAGCAGCCTGAGCGCCAGCCTGGC
 45 GACCGGGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCAAGTACCTGAAC
 GTACCAGCAGAAGCCGACGGCACCGTGAAGCTGCTGATCTACCACACCAGCCGGC
 TGACAGCGCGTCCCCAGCCGGTCAAGCGGCAGCGGCAGCGGACCGACTACAGC
 CTGACCATCAGCAACCTGGAGCAGGAGGACATGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGG

CAACACCCTGCCCTACACCTCGGAGGCAGGCGACCAAGCTGGAGATCACCAAGGCCG
 GAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCAGGCTCTGGCGGAGGCAGG
 CAGCGAGGTGAAGCTGCAGGAGTCTGGCCAGGCCTGGTGGCCCCAAGCCAGAGCC
 TGAGCGTGACCTGCACCGTGAGCGCGTGAGCCTGCCGACTACGGCGTGAGCTGG
 5 ATCAGGCAGCCCCACGGAAGGGCTGGAGTGGCTGGCGTGATCTGGGGCAGCGA
 GACCACCTACTACAACAGGCCCTGAAGAGCCGGCTGACCATCATCAAGGACAACA
 GCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGATGAACAGCCTGCAGACCGACGACACCGCCATC
 TACTACTGCGCCAAGCACTACTACTATGGCGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGG
 CCAGGGCACCAGCGTGACCGTGAGCTCAGATCCCACCACGACGCCAGCGCCGCGAC
 10 CACCAACACCAGGCCACCATCGCGTCGAGCCCTGCCCCGCGCCAGAGGCCAGAGGC
 TGCCGGCCAGCGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGA
 TATCTTTGGGTGCTGGTGGTGGAGTCCTGGCTGCTAGCTTGCAGCAGGAGCGCAG
 AACAGTGGCCTTATTATTTCTGGGTGAGGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG
 ACGCCCCCGCGTACCAAGCAGGCCAGAACCGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGA
 15 CGAAGAGAGGAGTACGATTTGGACAAGAGACGTGGCCGGACCCCTGAGATGG
 GGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACACTGCAGAA
 AGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGG
 GGCAAGGGGCACGATGGCCTTACCAAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA
 CGACGCCCTCACATGCAGGCCCTGCCTCCTCGCAGAGCCGAGGGCAGGGAGTC
 20 TTCTAACATGCCGGGACGTGGAGGAAATCCCGGCCATGGAGACCGACACCCTG
 CTGCTGGGTGCTGCTGCTGGTGGCCAGCACCAGGCCAGGTGAAGCTGCA
 GCAGAGCGGGGGAGGCCTGGTAAGCCGGCATGAGCTGGTGGCCAGACCAGCGA
 ACCAGCGGCTTCACCTTCCGAAGTCGGCATGAGCTGGTGGCCAGCATCAGCACCG
 CAAGCGGCTGGAGTGGTGGCCAGCAGTACAGCACCGCCGGCTACAACACCTACTACA
 25 GCGACAACGTGAAGGGCCGGTACCATCAGCCGGAGAACGCCAGAACACCC
 GTACCTGCAGATGAGCAGCCTGAAGAGCGAGGACACCAGCCCTGTACTACTGCACCC
 GGGGCTACAGCAGCACAGCTACGCTATGGACTACTGGGCCAGGGCACCACCGTG
 ACAGTGAGCAGCGCGGAGGAGGAGCAGTGGTGGGGTGGATCTGGCGGAGGTGGCA
 GCGACATCGAGCTGACCCAGAGCCCCGCCAGCCTGAGCGTGGCCACCGCGAGAAG
 30 GTGACCATCCGGTGCATGACCAGCACCGACATCGACGACGACATGAACCTGGTACCA
 GCAGAAGCCGGCGAGCCCCAAAGTCCCTGATCAGCGAGGGCAACACCCCTGCC
 CCGCGTGCCAGCCGGTTCAGCAGCGGACCGGACCTCGTGGCCACCGACTTCGTT
 ATCGAGAACACCCCTGAGCGAGGACGTGGCGACTACTACTGCCTGCAGAGCTTCAA
 CGTCCCCCTGACCTTCGGCGACGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGGTGGATCCCG
 35 CCGAGCCAAATCTCCTGACAAAACACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTCCC
 GTGGCCGGCCCGTCAGTCTCCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATC
 GCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA
 GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
 CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACCGTCTCACCCTG
 40 CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCC
 CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC
 AGGTGTACACCCCTGCCCTCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTACCGCT
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTCTATCCCAGCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAA
 TGGGCAACCGGAGAACAAACTACAAGACACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCT
 45 CCTTCTCCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAAC
 GTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCACTATACCCAGAAATCT
 CTGAGTCTGAGCCCAGGCAAGAAGGACCCCAAGGCAGGTTTGCTGTATCTTGGT
 GCCCTGGTTATTGTGACTGTGGAGGCTCATCTCTGGAGAAAGAAGAGGAAAGA

TGCAAAGAATAATGAAGTGTCCCTTTCTCAAATTAAACCTAAAAATCTAAGTTAAT
 CAGAGTGGAGAATTGAGGCCTACTTCAAGAACGAGCTGACTCCAACGTG
 GGTCGAGAGGAATACGAAGATCTGAAGCTTGGATTAGTCAACCTAAATAT
 GCAGCAGAACTGGCTGAGAATAGAGGAAAGAACGCTATAATAATGTTCTGCCCTA
 5 TGATATTCCCCTGTCAAACCTTCGGTCCAGACCCATTCAACGGATGACTACATCAA
 TGCCAACATACATGCCTGGCTACCACTCCAAGAAAGATTATTGCCACACAAGGACC
 TTTACCGAACACTTGAAAGATTGGCGTATGGTTGGGAGAAAATGTATATGC
 CATCATTATGTTGACTAAATGTGTTGAACAGGGAGAACCAAATGTGAGGAGTATT
 GCCCTCCAAGCAGGCTCAGGACTATGGAGACATAACTGTGGCAATGACATCAGAA
 10 ATTGTTCTTCCGGAATGGACCATTAGAGATTTCACAGTGAAAAATATCCAGACAAG
 TGAGAGTCACCCCTTGAGACAGTCCATTCCACCTCCTGGCCAGACCACGGTGTCC
 CGACACCACTGACCTGCTCATCAACTCCGGTACCTCGTGTGACTACATGAAGCA
 GAGTCCTCCCGAATGCCGATTCTGGTGCATTGCAGTGTGGTCGGAGGACGG
 GCACCTTCATTGCCATTGATCGTCTCATCTACCAGATAGAGAACACCGTGG
 15 ATGTGTATGGGATTGTGTATGACCTTCGAATGCATAGGCCTTAATGGTGCAGACAG
 AGGACCACTATGTTCTCAATCAGTGTGGATTGTCAGATCCCAGAAAG
 ACTCAAAAGTAGATCTTATCTACCAGAACACAACGCAATGACAATCTATGAAAAC
 CTTGCCCGTGACCACATTGGAAAGACCAATGGTACATGCCCTAA

Пример 11: разработка и конструкция CAR на основе APRIL.

20 APRIL в его природной форме представляет собой секретируемый белок II типа. Использование APRIL в качестве BCMA связывающего домена для CAR требует превращения этого секретируемого белка II типа в связанный с мембраной белок I типа, и для этого белок должен быть стабильным и сохранять связывание с BCMA в этой форме. Для того чтобы создавать возможно подходящие молекулы, дальний
 25 амино-конец APRIL удаляли для того, чтобы удалять связывание с протеогликанами. Затем добавляли сигнальный пептид для того, чтобы направлять появляющийся белок в эндоплазматический ретикулум, и таким образом, на клеточную поверхность. Также, поскольку свойства используемого спейсера могут менять функционирование CAR, тестировали три различных спейсерных домена: создавали CAR на основе APRIL,
 30 содержащий (i) спейсер IgG1 человека, измененный для того, чтобы удалять Fc связывающие мотивы; (ii) «стебель» CD8; и (iii) отдельно шарнир IgG1 (рисунок на фиг. 25 и аминокислотные последовательности на фиг. 26). Эти CAR экспрессировали в бицистронном ретровирусном векторе (фиг. 27А) с тем, чтобы маркерный белок - усеченный CD34 можно было совместно экспрессировать в качестве удобного
 35 маркерного гена.

Пример 12: экспрессия и функционирование CAR на основе APRIL.

Цель этого исследования состояла в том, чтобы тестировать экспрессию сконструированных CAR на основе APRIL на клеточной поверхности и формирует ли укладка APRIL нативный белок. Т-клетки трансдуцировали этими конструкциями с
 40 различными CAR и окрашивали с использованием коммерчески доступного mAb против APRIL наряду с окрашиванием по маркерному гену и анализировали с помощью проточной цитометрии. Результаты этого эксперимента представлены на фиг. 27В, где на график нанесено связывание APRIL в зависимости от флуоресценции маркерного гена. Эти данные показывают, что в этом формате CAR на основе APRIL
 45 экспрессированы на клеточной поверхности и APRIL укладывается достаточно, чтобы быть распознанным с помощью mAb против APRIL.

Затем определяли, может ли APRIL в этом формате распознавать BCMA и TACI. Рекомбинантные BCMA и TACI создавали в виде слитных белков с IgG2a-Fc мыши. Эти

рекомбинантные белки инкубировали с трансдуцированными Т-клетками. После этого клетки промывали и окрашивали антимышинным антителом, конъюгированным с флуорофором, и антителом для обнаружения маркерного гена, конъюгированным с другим флуорофором. Клетки анализировали с помощью проточной цитометрии и результаты представлены на фиг. 27С. Различные CAR способны связывать как BCMA, так и TACI. К удивлению, CAR способны связывать BCMA лучше, чем TACI. Также, к удивлению, CAR со «стеблем» CD8 или шарнирным IgG1 спейсером способны лучше связывать BCMA и TACI, чем CAR с Fc спейсером.

Пример 13: химерные антигенные рецепторы на основе APRIL активны против

экспрессирующих BCMA клеток

Т-клетки от нормальных доноров трансдуцировали различными APRIL CAR и тестировали на клетках SupT1 или дикого типа или сконструированных для того, чтобы экспрессировать BCMA и TACI. Использовали несколько различных анализов для того, чтобы определять функцию. Осуществляли классический анализ на высвобождение хрома. Здесь клетки-мишени (клетки SupT1) метили с использованием ^{51}Cr и смешивали с эффекторами (трансдуцированные Т-клетки) в различных соотношениях. Лизис клеток-мишеней определяли посредством подсчета ^{51}Cr в супернатанте совместной культуры (на фиг. 28А представлены кумулятивные данные).

Кроме того, супернатант от Т-клеток, которые культивировали 1:1 с клетками SupT1, анализировали с помощью ELISA на интерферон- γ (на фиг. 28В представлены кумулятивные данные). Также осуществляли измерение размножения Т-клеток после одной недели совместного культивирования с клетками SupT1 (фиг. 28С). Т-клетки считали с помощью проточного цитометра, который калибровали с использованием счетных гранул. Эти экспериментальные данные показывают, что CAR на основе APRIL могут уничтожать мишени, экспрессирующие BCMA. Кроме того, эти данные показывают, что CAR, основанные на «стебле» CD8 или шарнире IgG1, работали лучше, чем CAR на основе Fc-рваа.

Пример 14: функциональный анализ логического элемента И в первичных клетках

PBMC выделяли из крови и стимулировали с использованием PHA и IL-2. Двумя сутками позже клетки трансдуцировали в покрытых ретронектином планшетах с использованием ретровируса, содержащего конструкцию логического элемента И CD19:CD33. В сутки 5 уровень экспрессии двух CAR, транслируемых конструкцией логического элемента И, оценивали через проточную цитометрию, и клетки обедняли по CD56+ клеткам (преимущественно естественные киллерные клетки). В сутки 6 PBMC помещали в совместную культуру с клетками-мишенями в соотношении эффекторы к клеткам-мишеням 1:2. В сутки 8 супернатант собирали и анализировали на секрецию IFN- γ с помощью ELISA (фиг. 29).

Эти данные демонстрируют, что логический элемент И функционирует в первичных клетках.

Все публикации, указанные в приведенном выше описании, включены в настоящий документ посредством ссылки. Различные модификации и вариации описанных способов и систем по изобретению будут очевидны специалисты в данной области, не отступая от объема и сущности изобретения. Несмотря на то, что изобретение описан

применительно к конкретным предпочтительным вариантам осуществления, следует понимать, что изобретение, как заявлено, не должно быть чрезмерно ограничено такими конкретными вариантами осуществления. В действительности, предусмотрено, что различные модификации описанных способов осуществления изобретения, которые очевидны специалистам в молекулярной биологии, клеточной биологии или связанных

областях, включены в объем следующей формулы изобретения.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110>	UCL Business PLC			
<120>	Т-клетка			
5	<130>	P103294PCT1		
	<150>	GB 1410934.2		
	<151>	2014-06-19		
	<160>	53		
	<170>	PatentIn version 3.5		
10	<210>	1		
	<211>	1129		
	<212>	Белок		
	<213>	Искусственная последовательность		
	<220>			
15	<223>	Химерный антигенный рецептор (CAR)		
	<400>	1		
	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu			
	1	5	10	15
	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu			
20	20	25	30	
	Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln			
	35	40	45	
	Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr			
	50	55	60	
25	Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro			
	65	70	75	80
	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile			
	85	90	95	
	Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly			
30	100	105	110	
	Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr			
	115	120	125	
	Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly			
	130	135	140	
35	Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly			
	145	150	155	160
	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly			
	165	170	175	
	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg			
40	180	185	190	
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr			
	195	200	205	
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser			
	210	215	220	
45	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr			
	225	230	235	240
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala			
	245	250	255	

RU 2717984 C2

	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro		
	260	265	270
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala		
	275	280	285
5	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly		
	290	295	300
	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp		
	305	310	315
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val		
10	325	330	335
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	340	345	350
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn		
	355	360	365
15	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg		
	370	375	380
	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro		
	385	390	395
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		
20	405	410	415
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
	420	425	430
	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
	435	440	445
25	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly		
	450	455	460
	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala		
	465	470	475
	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala		
30	485	490	495
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser		
	500	505	510
	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr		
	515	520	525
35	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
	530	535	540
	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe		
	545	550	555
	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
40	565	570	575
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr		
	580	585	590
	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly		
	595	600	605
45	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu		
	625	630	635
			640

RU 2717984 C2

	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
	645	650	655
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
	660	665	670
5	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr		
	675	680	685
	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala		
	690	695	700
	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
10	705	710	715
	720		
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe		
	725	730	735
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro		
	740	745	750
15	Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro		
	755	760	765
	Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
	770	775	780
	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
20	785	790	795
	800		
	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
	805	810	815
	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
	820	825	830
25	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
	835	840	845
	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
	850	855	860
	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
30	865	870	875
	880		
	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr		
	885	890	895
	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
	900	905	910
35	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
	915	920	925
	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
	930	935	940
	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
40	945	950	955
	960		
	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
	965	970	975
	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe Trp Val Leu		
	980	985	990
45	Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val		
	995	1000	1005
	Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	1010	1015	1020

RU 2717984 C2

Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
 1025 1030 1035
 Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 1040 1045 1050
 5 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 1055 1060 1065
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 1070 1075 1080
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
 10 1085 1090 1095
 Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 1100 1105 1110
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 1115 1120 1125
 15 Arg
 <210> 2
 <211> 1350
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 20 <220>
 <223> Химерный антигенный рецептор (CAR)
 <400> 2
 Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
 20 25 30
 25 Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 35 40 45
 Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
 30 50 55 60
 Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
 85 90 95
 35 Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 115 120 125
 Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 40 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 145 150 155 160
 Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly
 165 170 175
 45 Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg
 180 185 190
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr
 195 200 205

RU 2717984 C2

Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser
 210 215 220
 Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr
 225 230 235 240
 5 Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala
 245 250 255
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro
 260 265 270
 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
 10 275 280 285
 Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
 290 295 300
 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp
 305 310 315 320
 15 Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
 325 330 335
 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg
 340 345 350
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 20 355 360 365
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 370 375 380
 Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
 385 390 395 400
 25 Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
 405 410 415
 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 420 425 430
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 30 435 440 445
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly
 450 455 460
 Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala
 465 470 475 480
 35 Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala
 485 490 495
 Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
 500 505 510
 Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr
 40 515 520 525
 Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 530 535 540
 Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe
 545 550 555 560
 45 Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 565 570 575
 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr
 580 585 590

RU 2717984 C2

	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly		
	595	600	605
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	610	615	620
5	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu		
	625	630	635
	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
	645	650	655
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
10	660	665	670
	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr		
	675	680	685
	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala		
	690	695	700
15	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
	705	710	715
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe		
	725	730	735
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro		
20	740	745	750
	Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro		
	755	760	765
	Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
	770	775	780
25	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
	785	790	795
	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
	805	810	815
	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
30	820	825	830
	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
	835	840	845
	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
	850	855	860
35	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
	865	870	875
	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr		
	885	890	895
	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
40	900	905	910
	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
	915	920	925
	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
	930	935	940
45	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
	945	950	955
	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
	965	970	975

RU 2717984 C2

Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Asp	Pro	Lys	Ala	Val	Phe	Gly	
					980		985						990		
Cys	Ile	Phe	Gly	Ala	Leu	Val	Ile	Val	Thr	Val	Gly	Gly	Phe	Ile	Phe
					995		1000						1005		
5	Trp	Arg	Lys	Lys	Arg	Lys	Asp	Ala	Lys	Asn	Asn	Glu	Val	Ser	Phe
					1010		1015						1020		
Ser	Gln	Ile	Lys	Pro	Lys	Lys	Ser	Lys	Leu	Ile	Arg	Val	Glu	Asn	
					1025		1030						1035		
10	Phe	Glu	Ala	Tyr	Phe	Lys	Lys	Gln	Gln	Ala	Asp	Ser	Asn	Cys	Gly
					1040		1045						1050		
Phe	Ala	Glu	Glu	Tyr	Glu	Asp	Leu	Lys	Leu	Val	Gly	Ile	Ser	Gln	
					1055		1060						1065		
Pro	Lys	Tyr	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Glu	Asn	Arg	Gly	Lys	Asn	Arg	
					1070		1075						1080		
15	Tyr	Asn	Asn	Val	Leu	Pro	Tyr	Asp	Ile	Ser	Arg	Val	Lys	Leu	Ser
					1085		1090						1095		
Val	Gln	Thr	His	Ser	Thr	Asp	Asp	Tyr	Ile	Asn	Ala	Asn	Tyr	Met	
					1100		1105						1110		
20	Pro	Gly	Tyr	His	Ser	Lys	Lys	Asp	Phe	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Pro
					1115		1120						1125		
Leu	Pro	Asn	Thr	Leu	Lys	Asp	Phe	Trp	Arg	Met	Val	Trp	Glu	Lys	
					1130		1135						1140		
Asn	Val	Tyr	Ala	Ile	Ile	Met	Leu	Thr	Lys	Cys	Val	Glu	Gln	Gly	
					1145		1150						1155		
25	Arg	Thr	Lys	Cys	Glu	Glu	Tyr	Trp	Pro	Ser	Lys	Gln	Ala	Gln	Asp
					1160		1165						1170		
Tyr	Gly	Asp	Ile	Thr	Val	Ala	Met	Thr	Ser	Glu	Ile	Val	Leu	Pro	
					1175		1180						1185		
30	Glu	Trp	Thr	Ile	Arg	Asp	Phe	Thr	Val	Lys	Asn	Ile	Gln	Thr	Ser
					1190		1195						1200		
Glu	Ser	His	Pro	Leu	Arg	Gln	Phe	His	Phe	Thr	Ser	Trp	Pro	Asp	
					1205		1210						1215		
His	Gly	Val	Pro	Asp	Thr	Thr	Asp	Leu	Leu	Ile	Asn	Phe	Arg	Tyr	
					1220		1225						1230		
35	Leu	Val	Arg	Asp	Tyr	Met	Lys	Gln	Ser	Pro	Pro	Glu	Ser	Pro	Ile
					1235		1240						1245		
Leu	Val	His	Cys	Ser	Ala	Gly	Val	Gly	Arg	Thr	Gly	Thr	Phe	Ile	
					1250		1255						1260		
40	Ala	Ile	Asp	Arg	Leu	Ile	Tyr	Gln	Ile	Glu	Asn	Glu	Asn	Thr	Val
					1265		1270						1275		
Asp	Val	Tyr	Gly	Ile	Val	Tyr	Asp	Leu	Arg	Met	His	Arg	Pro	Leu	
					1280		1285						1290		
Met	Val	Gln	Thr	Glu	Asp	Gln	Tyr	Val	Phe	Leu	Asn	Gln	Cys	Val	
					1295		1300						1305		
45	Leu	Asp	Ile	Val	Arg	Ser	Gln	Lys	Asp	Ser	Lys	Val	Asp	Leu	Ile
					1310		1315						1320		
Tyr	Gln	Asn	Thr	Thr	Ala	Met	Thr	Ile	Tyr	Glu	Asn	Leu	Ala	Pro	
					1325		1330						1335		

Val Thr Thr Phe Gly Lys Thr Asn Gly Tyr Ile Ala
 1340 1345 1350
 <210> 3
 <211> 1717
 5 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Химерный антигенный рецептор (CAR)
 <400> 3
 10 Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 15 35 40 45
 Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
 50 55 60
 Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 20 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 25 115 120 125
 Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 145 150 155 160
 30 Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly
 165 170 175
 Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg
 180 185 190
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr
 35 195 200 205
 Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser
 210 215 220
 Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr
 225 230 235 240
 40 Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala
 245 250 255
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro
 260 265 270
 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
 45 275 280 285
 Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
 290 295 300
 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp

RU 2717984 C2

	305	310	315	320
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val			
	325	330	335	
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg			
5	340	345	350	
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn			
	355	360	365	
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg			
	370	375	380	
10	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro			
	385	390	395	400
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala			
	405	410	415	
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys Gly His			
15	420	425	430	
	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp			
	435	440	445	
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly			
	450	455	460	
20	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala			
	465	470	475	480
	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala			
	485	490	495	
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser			
25	500	505	510	
	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr			
	515	520	525	
	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu			
	530	535	540	
30	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe			
	545	550	555	560
	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu			
	565	570	575	
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr			
35	580	585	590	
	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly			
	595	600	605	
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
	610	615	620	
40	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu			
	625	630	635	640
	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe			
	645	650	655	
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys			
45	660	665	670	
	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Ser Thr Tyr			
	675	680	685	
	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala			

RU 2717984 C2

	690	695	700
	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Ala Glu Asp Thr	
705	710	715	720
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala	Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe	
5	725	730	735
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val	Ser Ser Met Asp Pro	
	740	745	750
	Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr	Cys Pro Pro Cys Pro	
	755	760	765
10	Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu	Phe Pro Pro Lys Pro	
	770	775	780
	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val	Thr Cys Val Val	
785	790	795	800
	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys	Phe Asn Trp Tyr Val	
15	805	810	815
	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro	Arg Glu Glu Gln	
	820	825	830
	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu	Thr Val Leu His Gln	
	835	840	845
20	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys	Val Ser Asn Lys Ala	
	850	855	860
	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala	Lys Gly Gln Pro	
865	870	875	880
	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg	Asp Glu Leu Thr	
25	885	890	895
	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys	Gly Phe Tyr Pro Ser	
	900	905	910
	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln	Pro Glu Asn Asn Tyr	
	915	920	925
30	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly	Ser Phe Phe Leu Tyr	
	930	935	940
	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln	Gln Gly Asn Val Phe	
945	950	955	960
	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His	Tyr Thr Gln Lys	
35	965	970	975
	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys	Ala Leu Ile Ala	
	980	985	990
	Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile Ala	Leu Leu Val Val	
	995	1000	1005
40	Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg	Ser Cys Asn Leu	
	1010	1015	1020
	Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu	Lys Gln Leu	
	1025	1030	1035
	Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu	Leu Glu Thr Tyr	
45	1040	1045	1050
	Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe	Leu Ala Glu Phe	
	1055	1060	1065
	Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro	Ile Lys Glu Ala	

RU 2717984 C2

	1070	1075	1080
	Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn	Lys Asn Arg Tyr Val	Asp Ile Leu
	1085	1090	1095
5	Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val	Glu Leu Ser Glu Ile	Asn Gly Asp
	1100	1105	1110
	Ala Gly Ser Asn Tyr Ile Asn	Ala Ser Tyr Ile Asp	Gly Phe Lys
	1115	1120	1125
	Glu Pro Arg Lys Tyr Ile Ala	Ala Gln Gly Pro Arg	Asp Glu Thr
	1130	1135	1140
10	Val Asp Asp Phe Trp Arg Met	Ile Trp Glu Gln Lys	Ala Thr Val
	1145	1150	1155
	Ile Val Met Val Thr Arg Cys	Glu Glu Gly Asn Arg	Asn Lys Cys
	1160	1165	1170
15	Ala Glu Tyr Trp Pro Ser Met	Glu Glu Gly Thr Arg	Ala Phe Gly
	1175	1180	1185
	Asp Val Val Val Lys Ile Asn	Gln His Lys Arg Cys	Pro Asp Tyr
	1190	1195	1200
	Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile	Val Asn Lys Lys Glu	Lys Ala Thr
	1205	1210	1215
20	Gly Arg Glu Val Thr His Ile	Gln Phe Thr Ser Trp	Pro Asp His
	1220	1225	1230
	Gly Val Pro Glu Asp Pro His	Leu Leu Leu Lys Leu	Arg Arg Arg
	1235	1240	1245
	Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe	Phe Ser Gly Pro Ile	Val Val His
25	1250	1255	1260
	Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg	Thr Gly Thr Tyr Ile	Gly Ile Asp
	1265	1270	1275
	Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu	Ala Glu Asn Lys Val	Asp Val Tyr
	1280	1285	1290
30	Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg	Arg Gln Arg Cys Leu	Met Val Gln
	1295	1300	1305
	Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu	Ile His Gln Ala Leu	Val Glu Tyr
	1310	1315	1320
	Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu	Val Asn Leu Ser Glu	Leu His Pro
35	1325	1330	1335
	Tyr Leu His Asn Met Lys Lys	Arg Asp Pro Pro Ser	Glu Pro Ser
	1340	1345	1350
	Pro Leu Glu Ala Glu Phe Gln	Arg Leu Pro Ser Tyr	Arg Ser Trp
	1355	1360	1365
40	Arg Thr Gln His Ile Gly Asn	Gln Glu Glu Asn Lys	Ser Lys Asn
	1370	1375	1380
	Arg Asn Ser Asn Val Ile Pro	Tyr Asp Tyr Asn Arg	Val Pro Leu
	1385	1390	1395
	Lys His Glu Leu Glu Met Ser	Lys Glu Ser Glu His	Asp Ser Asp
45	1400	1405	1410
	Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser	Asp Ser Glu Glu Pro	Ser Lys Tyr
	1415	1420	1425
	Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met	Ser Tyr Trp Lys Pro	Glu Val Met

RU 2717984 C2

	1430	1435	1440
	Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu Thr Ile Gly Asp Phe Trp		
	1445	1450	1455
	Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val Ile Val Met Leu Thr		
5	1460	1465	1470
	Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala Gln Tyr Trp Gly		
	1475	1480	1485
	Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp Leu Lys Asp		
	1490	1495	1500
10	Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu Leu Arg		
	1505	1510	1515
	His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln Tyr		
	1520	1525	1530
	Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu		
15	1535	1540	1545
	Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn		
	1550	1555	1560
	Ser Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile		
	1565	1570	1575
20	His Cys Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu		
	1580	1585	1590
	Leu Asn Leu Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile		
	1595	1600	1605
	Phe Gln Val Val Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val		
25	1610	1615	1620
	Ser Thr Phe Glu Gln Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser		
	1625	1630	1635
	Thr Tyr Pro Ala Gln Asn Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln		
	1640	1645	1650
30	Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln		
	1655	1660	1665
	Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro		
	1670	1675	1680
	Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser Glu Pro Thr Ser Gly Thr		
35	1685	1690	1695
	Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro Ala Ser Pro Ala Leu		
	1700	1705	1710
	Asn Gln Gly Ser		
	1715		
40	<210> 4		
	<211> 1114		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
45	<223> Химерный антигенный рецептор (CAR)		
	<400> 4		
	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu		
	1	5	10
			15

RU 2717984 C2

	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu		
	20	25	30
	Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln		
	35	40	45
5	Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr		
	50	55	60
	Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro		
	65	70	75
	80		
10	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile		
	85	90	95
	Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly		
	100	105	110
	Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr		
	115	120	125
15	Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
	130	135	140
	Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly		
	145	150	155
	160		
20	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly		
	165	170	175
	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg		
	180	185	190
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr		
	195	200	205
25	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser		
	210	215	220
	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr		
	225	230	235
	240		
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala		
30	245	250	255
	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro		
	260	265	270
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala		
	275	280	285
35	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly		
	290	295	300
	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp		
	305	310	315
	320		
	Val Leu Val Val Val Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val		
40	325	330	335
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	340	345	350
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn		
	355	360	365
45	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg		
	370	375	380
	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro		
	385	390	395
	400		

RU 2717984 C2

	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		
	405	410	415
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
	420	425	430
5	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
	435	440	445
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly		
	450	455	460
	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala		
10	465	470	475
	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala		
	485	490	495
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser		
	500	505	510
15	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr		
	515	520	525
	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
	530	535	540
	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe		
20	545	550	555
	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
	565	570	575
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr		
	580	585	590
25	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly		
	595	600	605
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu		
30	625	630	635
	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
	645	650	655
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
	660	665	670
35	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Ser Thr Tyr		
	675	680	685
	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala		
	690	695	700
	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
40	705	710	715
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe		
	725	730	735
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro		
	740	745	750
45	Ala Thr Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro		
	755	760	765
	Thr Gly Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly		
	770	775	780

RU 2717984 C2

Ser Val Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Trp Ala
 785 790 795 800
 Pro Leu Ala Gly Ile Cys Val Ala Leu Leu Ser Leu Ile Ile Thr
 805 810 815
 5 Leu Ile Cys Tyr His Arg Ser Arg Lys Arg Val Cys Lys Ser Gly Gly
 820 825 830
 Gly Ser Phe Trp Glu Glu Phe Glu Ser Leu Gln Lys Gln Glu Val Lys
 835 840 845
 Asn Leu His Gln Arg Leu Glu Gly Gln Arg Pro Glu Asn Lys Gly Lys
 10 850 855 860
 Asn Arg Tyr Lys Asn Ile Leu Pro Phe Asp His Ser Arg Val Ile Leu
 865 870 875 880
 Gln Gly Arg Asp Ser Asn Ile Pro Gly Ser Asp Tyr Ile Asn Ala Asn
 885 890 895
 15 Tyr Ile Lys Asn Gln Leu Leu Gly Pro Asp Glu Asn Ala Lys Thr Tyr
 900 905 910
 Ile Ala Ser Gln Gly Cys Leu Glu Ala Thr Val Asn Asp Phe Trp Gln
 915 920 925
 Met Ala Trp Gln Glu Asn Ser Arg Val Ile Val Met Thr Thr Arg Glu
 20 930 935 940
 Val Glu Lys Gly Arg Asn Lys Cys Val Pro Tyr Trp Pro Glu Val Gly
 945 950 955 960
 Met Gln Arg Ala Tyr Gly Pro Tyr Ser Val Thr Asn Cys Gly Glu His
 965 970 975
 25 Asp Thr Thr Glu Tyr Lys Leu Arg Thr Leu Gln Val Ser Pro Leu Asp
 980 985 990
 Asn Gly Asp Leu Ile Arg Glu Ile Trp His Tyr Gln Tyr Leu Ser Trp
 995 1000 1005
 Pro Asp His Gly Val Pro Ser Glu Pro Gly Gly Val Leu Ser Phe
 30 1010 1015 1020
 Leu Asp Gln Ile Asn Gln Arg Gln Glu Ser Leu Pro His Ala Gly
 1025 1030 1035
 Pro Ile Ile Val His Cys Ser Ala Gly Ile Gly Arg Thr Gly Thr
 1040 1045 1050
 35 Ile Ile Val Ile Asp Met Leu Met Glu Asn Ile Ser Thr Lys Gly
 1055 1060 1065
 Leu Asp Cys Asp Ile Asp Ile Gln Lys Thr Ile Gln Met Val Arg
 1070 1075 1080
 Ala Gln Arg Ser Gly Met Val Gln Thr Glu Ala Gln Tyr Lys Phe
 40 1085 1090 1095
 Ile Tyr Val Ala Ile Ala Gln Phe Ile Glu Thr Thr Lys Lys Lys
 1100 1105 1110
 Leu
 <210> 5
 45 <211> 918
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

<223> Химерный антигенный рецептор (CAR)

<400> 5

	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu	
1	5	10
	15	
5	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser	Leu
	20	25
	30	
	Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln	
	35	40
	45	
	Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr	
10	50	55
	60	
	Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro	
	65	70
	75	80
	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile	
	85	90
	95	
15	Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly	
	100	105
	110	
	Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr	
	115	120
	125	
	Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	
20	130	135
	140	
	Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly	
	145	150
	155	160
	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly	
	165	170
	175	
25	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg	
	180	185
	190	
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr	
	195	200
	205	
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser	
30	210	215
	220	
	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr	
	225	230
	235	240
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala	
	245	250
	255	
35	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro	
	260	265
	270	
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala	
	275	280
	285	
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly	
40	290	295
	300	
	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp	
	305	310
	315	320
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val	
	325	330
	335	
45	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg	
	340	345
	350	
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn	
	355	360
	365	

RU 2717984 C2

	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg			
	370	375	380	
	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro			
	385	390	395	400
5	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala			
	405	410	415	
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His			
	420	425	430	
10	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp			
	435	440	445	
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly			
	450	455	460	
	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala			
	465	470	475	480
15	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala			
	485	490	495	
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser			
	500	505	510	
	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr			
20	515	520	525	
	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu			
	530	535	540	
	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe			
	545	550	555	560
25	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu			
	565	570	575	
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr			
	580	585	590	
	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly			
30	595	600	605	
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly			
	610	615	620	
	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu			
	625	630	635	640
35	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe			
	645	650	655	
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys			
	660	665	670	
	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr			
40	675	680	685	
	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala			
	690	695	700	
	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr			
	705	710	715	720
45	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe			
	725	730	735	
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro			
	740	745	750	

Ala Thr Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro
 755 760 765
 Thr Gly Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly
 770 775 780
 5 Ser Val Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Leu Ile Gly
 785 790 795 800
 Val Ser Val Val Phe Leu Phe Cys Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys
 805 810 815
 Leu His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp
 10 820 825 830
 Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu
 835 840 845
 Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp
 850 855 860
 15 Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val
 865 870 875 880
 Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg
 885 890 895
 Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr
 20 900 905 910
 Ala Ala Val Ala Arg His
 915
 <210> 6
 <211> 1363
 25 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Химерный антигенный рецептор (CAR)
 <400> 6
 30 Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 35 35 40 45
 Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
 50 55 60
 Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 40 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 45 115 120 125
 Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly

RU 2717984 C2

	145	150	155	160
	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly			
	165	170	175	
5	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg			
	180	185	190	
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr			
	195	200	205	
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser			
	210	215	220	
10	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr			
	225	230	235	240
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala			
	245	250	255	
	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro			
15	260	265	270	
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala			
	275	280	285	
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly			
	290	295	300	
20	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp			
	305	310	315	320
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val			
	325	330	335	
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg			
25	340	345	350	
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn			
	355	360	365	
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg			
	370	375	380	
30	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro			
	385	390	395	400
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala			
	405	410	415	
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His			
35	420	425	430	
	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp			
	435	440	445	
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly			
	450	455	460	
40	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala			
	465	470	475	480
	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala			
	485	490	495	
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser			
45	500	505	510	
	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr			
	515	520	525	
	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu			

	530	535	540
	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe		
545	550	555	560
	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
5	565	570	575
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr		
580	585	590	
	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly		
595	600	605	
10	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu		
625	630	635	640
	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
15	645	650	655
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
	660	665	670
	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr		
	675	680	685
20	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala		
	690	695	700
	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
705	710	715	720
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe		
25	725	730	735
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro		
	740	745	750
	Ala Thr Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro		
	755	760	765
30	Thr Gly Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly		
	770	775	780
	Ser Val Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Leu Ile Gly		
785	790	795	800
	Val Ser Val Val Phe Leu Phe Cys Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys		
35	805	810	815
	Leu His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp		
	820	825	830
	Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu		
	835	840	845
40	Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp		
	850	855	860
	Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val		
865	870	875	880
	Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg		
45	885	890	895
	Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr		
	900	905	910
	Ala Ala Val Ala Arg His Arg Ala Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr		

RU 2717984 C2

	915	920	925
	Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Trp Tyr His Gly His Met		
	930	935	940
	Ser Gly Gly Gln Ala Glu Thr Leu Leu Gln Ala Lys Gly Glu Pro Trp		
5	945	950	955
	Thr Phe Leu Val Arg Glu Ser Leu Ser Gln Pro Gly Asp Phe Val Leu		
	965	970	975
	Ser Val Leu Ser Asp Gln Pro Lys Ala Gly Pro Gly Ser Pro Leu Arg		
	980	985	990
10	Val Thr His Ile Lys Val Met Cys Glu Gly Gly Arg Tyr Thr Val Gly		
	995	1000	1005
	Gly Leu Glu Thr Phe Asp Ser Leu Thr Asp Leu Val Glu His Phe		
	1010	1015	1020
	Lys Lys Thr Gly Ile Glu Glu Ala Ser Gly Ala Phe Val Tyr Leu		
15	1025	1030	1035
	Arg Gln Pro Tyr Ser Gly Gly Gly Ser Phe Glu Ala Tyr Phe		
	1040	1045	1050
	Lys Lys Gln Gln Ala Asp Ser Asn Cys Gly Phe Ala Glu Glu Tyr		
	1055	1060	1065
20	Glu Asp Leu Lys Leu Val Gly Ile Ser Gln Pro Lys Tyr Ala Ala		
	1070	1075	1080
	Glu Leu Ala Glu Asn Arg Gly Lys Asn Arg Tyr Asn Asn Val Leu		
	1085	1090	1095
	Pro Tyr Asp Ile Ser Arg Val Lys Leu Ser Val Gln Thr His Ser		
25	1100	1105	1110
	Thr Asp Asp Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr Met Pro Gly Tyr His Ser		
	1115	1120	1125
	Lys Lys Asp Phe Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Pro Asn Thr Leu		
	1130	1135	1140
30	Lys Asp Phe Trp Arg Met Val Trp Glu Lys Asn Val Tyr Ala Ile		
	1145	1150	1155
	Ile Met Leu Thr Lys Cys Val Glu Gln Gly Arg Thr Lys Cys Glu		
	1160	1165	1170
	Glu Tyr Trp Pro Ser Lys Gln Ala Gln Asp Tyr Gly Asp Ile Thr		
35	1175	1180	1185
	Val Ala Met Thr Ser Glu Ile Val Leu Pro Glu Trp Thr Ile Arg		
	1190	1195	1200
	Asp Phe Thr Val Lys Asn Ile Gln Thr Ser Glu Ser His Pro Leu		
	1205	1210	1215
40	Arg Gln Phe His Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Asp		
	1220	1225	1230
	Thr Thr Asp Leu Leu Ile Asn Phe Arg Tyr Leu Val Arg Asp Tyr		
	1235	1240	1245
	Met Lys Gln Ser Pro Pro Glu Ser Pro Ile Leu Val His Cys Ser		
45	1250	1255	1260
	Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Phe Ile Ala Ile Asp Arg Leu		
	1265	1270	1275
	Ile Tyr Gln Ile Glu Asn Glu Asn Thr Val Asp Val Tyr Gly Ile		

	1280	1285	1290
	Val Tyr Asp Leu Arg Met His Arg Pro Leu Met Val Gln Thr Glu		
	1295	1300	1305
	Asp Gln Tyr Val Phe Leu Asn Gln Cys Val Leu Asp Ile Val Arg		
5	1310	1315	1320
	Ser Gln Lys Asp Ser Lys Val Asp Leu Ile Tyr Gln Asn Thr Thr		
	1325	1330	1335
	Ala Met Thr Ile Tyr Glu Asn Leu Ala Pro Val Thr Thr Phe Gly		
	1340	1345	1350
10	Lys Thr Asn Gly Tyr Ile Ala Ser Gly Ser		
	1355	1360	
	<210> 7		
	<211> 21		
	<212> Белок		
15	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Сигнальный пептид		
	<400> 7		
	Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala		
20	1	5	10
	Asp His Ala Asp Gly		15
	20		
	<210> 8		
	<211> 21		
25	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Сигнальный пептид		
	<400> 8		
30	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu		
	1	5	10
	His Ala Ala Arg Pro		15
	20		
	<210> 9		
35	<211> 20		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Сигнальный пептид		
40	<400> 9		
	Met Ala Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr		
	1	5	10
	Asp Ala Arg Cys		15
	20		
45	<210> 10		
	<211> 234		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		

<220>
<223> Спейсер (шарнир-CH₂CH₃ из IgG1 человека)
<400> 10
Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
5 1 5 10 15
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45
10 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
15 85 90 95
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125
20 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
25 165 170 175
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205
30 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp
225 230
<210> 11
35 <211> 46
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Спейсер (стебель CD8 человека)
40 <400> 11
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30
45 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
35 40 45
<210> 12
<211> 20

<212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Спейсер (шарнир IgG1 человека)
 5 <400> 12
 Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15
 Lys Asp Pro Lys
 20
 10 <210> 13
 <211> 185
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> Спейсер (эктодомен CD2)
 <400> 13
 Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp
 1 5 10 15
 Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp
 20 20 25 30
 Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg
 35 40 45
 Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys
 50 55 60
 25 Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile
 65 70 75 80
 Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys
 85 90 95
 Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser
 30 100 105 110
 Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr
 115 120 125
 Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser
 130 135 140
 35 Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe
 145 150 155 160
 Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro
 165 170 175
 Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu Asp
 40 180 185
 <210> 14
 <211> 259
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 45 <220>
 <223> Спейсер (эктодомен CD34)
 <400> 14
 Ser Leu Asp Asn Asn Gly Thr Ala Thr Pro Glu Leu Pro Thr Gln Gly

RU 2717984 C2

1	5	10	15
Thr Phe Ser Asn Val Ser Thr Asn Val Ser Tyr Gln Glu Thr Thr Thr			
20	25	30	
Pro Ser Thr Leu Gly Ser Thr Ser Leu His Pro Val Ser Gln His Gly			
5	35	40	45
Asn Glu Ala Thr Thr Asn Ile Thr Glu Thr Thr Val Lys Phe Thr Ser			
50	55	60	
Thr Ser Val Ile Thr Ser Val Tyr Gly Asn Thr Asn Ser Ser Val Gln			
65	70	75	80
10 Ser Gln Thr Ser Val Ile Ser Thr Val Phe Thr Thr Pro Ala Asn Val			
85	90	95	
Ser Thr Pro Glu Thr Thr Leu Lys Pro Ser Leu Ser Pro Gly Asn Val			
100	105	110	
Ser Asp Leu Ser Thr Thr Ser Leu Ala Thr Ser Pro Thr Lys			
15 115	120	125	
Pro Tyr Thr Ser Ser Ser Pro Ile Leu Ser Asp Ile Lys Ala Glu Ile			
130	135	140	
Lys Cys Ser Gly Ile Arg Glu Val Lys Leu Thr Gln Gly Ile Cys Leu			
145	150	155	160
20 Glu Gln Asn Lys Thr Ser Ser Cys Ala Glu Phe Lys Lys Asp Arg Gly			
165	170	175	
Glu Gly Leu Ala Arg Val Leu Cys Gly Glu Glu Gln Ala Asp Ala Asp			
180	185	190	
Ala Gly Ala Gln Val Cys Ser Leu Leu Leu Ala Gln Ser Glu Val Arg			
25 195	200	205	
Pro Gln Cys Leu Leu Leu Val Leu Ala Asn Arg Thr Glu Ile Ser Ser			
210	215	220	
Lys Leu Gln Leu Met Lys Lys His Gln Ser Asp Leu Lys Lys Leu Gly			
225	230	235	240
30 Ile Leu Asp Phe Thr Glu Gln Asp Val Ala Ser His Gln Ser Tyr Ser			
245	250	255	
Gln Lys Thr			
<210> 15			
<211> 140			
35 <212> Белок			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Трансмембранный домен CD28 и эндодомены CD3 Z			
<400> 15			
40 Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu			
1	5	10	15
Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe			
20	25	30	
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu			
45 35	40	45	
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp			
50	55	60	
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys			

	65	70	75	80
	Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala			
	85	90	95	
	Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys			
5	100	105	110	
	Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr			
	115	120	125	
	Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg			
	130	135	140	
10	<210> 16			
	<211> 180			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
15	<223> Трансмембранный домен CD28 и эндодомены CD28 и CD3 дзета			
	<400> 16			
	Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu			
1	1	5	10	15
	Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser			
20	20	25	30	
	Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly			
	35	40	45	
	Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala			
	50	55	60	
25	Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala			
	65	70	75	80
	Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg			
	85	90	95	
	Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu			
30	100	105	110	
	Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn			
	115	120	125	
	Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met			
	130	135	140	
35	Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly			
	145	150	155	160
	Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala			
	165	170	175	
	Leu Pro Pro Arg			
40	180			
	<210> 17			
	<211> 216			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
45	<220>			
	<223> Трансмембранный домен CD28 и эндодомены CD28, OX40 и CD3 дзета			
	<400> 17			
	Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu			

1	5	10	15
Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser			
20	25	30	
Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly			
5	35	40	45
Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala			
50	55	60	
Ala Tyr Arg Ser Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro			
65	70	75	80
10	Pro Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp		
	85	90	95
Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala			
	100	105	110
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu			
15	115	120	125
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly			
	130	135	140
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu			
145	150	155	160
20	Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser		
	165	170	175
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly			
	180	185	190
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu			
25	195	200	205
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg			
	210	215	
<210> 18			
<211> 729			
30	<212> Белок		
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Трансмембранный и эндодомен CD45			
<400> 18			
35	Ala Leu Ile Ala Phe Leu Ala Phe Leu Ile Ile Val Thr Ser Ile Ala		
1	5	10	15
Leu Leu Val Val Leu Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys Arg Ser			
	20	25	30
Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp Glu Lys			
40	35	40	45
Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu Glu Thr			
	50	55	60
Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala Glu Phe			
65	70	75	80
45	Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu Ala Arg		
	85	90	95
Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu Pro Tyr			
	100	105	110

RU 2717984 C2

	Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala Gly Ser		
	115	120	125
	Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro Arg Lys		
	130	135	140
5	Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp Phe Trp		
	145	150	155
	Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val Thr Arg		
	165	170	175
	Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro Ser Met		
10	180	185	190
	Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile Asn Gln		
	195	200	205
	His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile Val Asn		
	210	215	220
15	Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln Phe Thr		
	225	230	235
	Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu Leu Lys		
	245	250	255
	Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly Pro Ile		
20	260	265	270
	Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr Ile Gly		
	275	280	285
	Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val Asp Val		
	290	295	300
25	Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met Val Gln		
	305	310	315
	Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu Tyr Asn		
	325	330	335
	Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro Tyr Leu		
30	340	345	350
	His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro Leu Glu		
	355	360	365
	Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr Gln His		
	370	375	380
35	Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser Asn Val		
	385	390	395
	Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Pro Leu Lys His Glu Leu Glu Met		
	405	410	415
	Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp Ser		
40	420	425	430
	Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met Ser		
	435	440	445
	Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys Glu		
	450	455	460
45	Thr Ile Gly Asp Phe Trp Gln Met Ile Phe Gln Arg Lys Val Lys Val		
	465	470	475
	Ile Val Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala		
	485	490	495

RU 2717984 C2

Gln Tyr Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp
 500 505 510
 Leu Lys Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu
 515 520 525
 5 Leu Arg His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln
 530 535 540
 Tyr Thr Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu
 545 550 555 560
 Ile Ser Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn Ser
 10 565 570 575
 Ser Glu Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His Cys
 580 585 590
 Arg Asp Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu Asn Leu
 595 600 605
 15 Leu Glu Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val Val
 610 615 620
 Lys Ala Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu Gln
 625 630 635 640
 Tyr Gln Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn
 20 645 650 655
 Gly Gln Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp
 660 665 670
 Asn Glu Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu
 675 680 685
 25 Gly Ala Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser
 690 695 700
 Glu Pro Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro
 705 710 715 720
 Ala Ser Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser
 30 725
 <210> 19
 <211> 362
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 35 <220>
 <223> Трансмембранный и эндодомен CD148
 <400> 19
 Ala Val Phe Gly Cys Ile Phe Gly Ala Leu Val Ile Val Thr Val Gly
 1 5 10 15
 40 Gly Phe Ile Phe Trp Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ala Lys Asn Asn Glu
 20 25 30
 Val Ser Phe Ser Gln Ile Lys Pro Lys Lys Ser Lys Leu Ile Arg Val
 35 40 45
 Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Phe Lys Lys Gln Gln Ala Asp Ser Asn Cys
 45 50 55 60
 Gly Phe Ala Glu Glu Tyr Glu Asp Leu Lys Leu Val Gly Ile Ser Gln
 65 70 75 80
 Pro Lys Tyr Ala Ala Glu Leu Ala Glu Asn Arg Gly Lys Asn Arg Tyr

RU 2717984 C2

	85	90	95
	Asn Asn Val Leu Pro Tyr Asp Ile Ser Arg Val Lys Leu Ser Val Gln		
	100	105	110
5	Thr His Ser Thr Asp Asp Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr Met Pro Gly Tyr		
	115	120	125
	His Ser Lys Lys Asp Phe Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Pro Asn Thr		
	130	135	140
	Leu Lys Asp Phe Trp Arg Met Val Trp Glu Lys Asn Val Tyr Ala Ile		
	145	150	155
10	Ile Met Leu Thr Lys Cys Val Glu Gln Gly Arg Thr Lys Cys Glu Glu		
	165	170	175
	Tyr Trp Pro Ser Lys Gln Ala Gln Asp Tyr Gly Asp Ile Thr Val Ala		
	180	185	190
	Met Thr Ser Glu Ile Val Leu Pro Glu Trp Thr Ile Arg Asp Phe Thr		
15	195	200	205
	Val Lys Asn Ile Gln Thr Ser Glu Ser His Pro Leu Arg Gln Phe His		
	210	215	220
	Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Asp Thr Thr Asp Leu Leu		
	225	230	235
20	Ile Asn Phe Arg Tyr Leu Val Arg Asp Tyr Met Lys Gln Ser Pro Pro		
	245	250	255
	Glu Ser Pro Ile Leu Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly		
	260	265	270
	Thr Phe Ile Ala Ile Asp Arg Leu Ile Tyr Gln Ile Glu Asn Glu Asn		
25	275	280	285
	Thr Val Asp Val Tyr Gly Ile Val Tyr Asp Leu Arg Met His Arg Pro		
	290	295	300
	Leu Met Val Gln Thr Glu Asp Gln Tyr Val Phe Leu Asn Gln Cys Val		
	305	310	315
30	Leu Asp Ile Val Arg Ser Gln Lys Asp Ser Lys Val Asp Leu Ile Tyr		
	325	330	335
	Gln Asn Thr Thr Ala Met Thr Ile Tyr Glu Asn Leu Ala Pro Val Thr		
	340	345	350
	Thr Phe Gly Lys Thr Asn Gly Tyr Ile Ala		
35	355	360	
	<210> 20		
	<211> 595		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
40	<220>		
	<223> Последовательность PTPN6		
	<400> 20		
	Met Val Arg Trp Phe His Arg Asp Leu Ser Gly Leu Asp Ala Glu Thr		
	1	5	10
	15		
45	Leu Leu Lys Gly Arg Gly Val His Gly Ser Phe Leu Ala Arg Pro Ser		
	20	25	30
	Arg Lys Asn Gln Gly Asp Phe Ser Leu Ser Val Arg Val Gly Asp Gln		
	35	40	45

RU 2717984 C2

Val Thr His Ile Arg Ile Gln Asn Ser Gly Asp Phe Tyr Asp Leu Tyr
 50 55 60
 Gly Gly Glu Lys Phe Ala Thr Leu Thr Glu Leu Val Glu Tyr Tyr Thr
 65 70 75 80
 5 Gln Gln Gln Gly Val Leu Gln Asp Arg Asp Gly Thr Ile Ile His Leu
 85 90 95
 Lys Tyr Pro Leu Asn Cys Ser Asp Pro Thr Ser Glu Arg Trp Tyr His
 100 105 110
 Gly His Met Ser Gly Gly Gln Ala Glu Thr Leu Leu Gln Ala Lys Gly
 10 115 120 125
 Glu Pro Trp Thr Phe Leu Val Arg Glu Ser Leu Ser Gln Pro Gly Asp
 130 135 140
 Phe Val Leu Ser Val Leu Ser Asp Gln Pro Lys Ala Gly Pro Gly Ser
 145 150 155 160
 15 Pro Leu Arg Val Thr His Ile Lys Val Met Cys Glu Gly Gly Arg Tyr
 165 170 175
 Thr Val Gly Gly Leu Glu Thr Phe Asp Ser Leu Thr Asp Leu Val Glu
 180 185 190
 His Phe Lys Lys Thr Gly Ile Glu Glu Ala Ser Gly Ala Phe Val Tyr
 20 195 200 205
 Leu Arg Gln Pro Tyr Tyr Ala Thr Arg Val Asn Ala Ala Asp Ile Glu
 210 215 220
 Asn Arg Val Leu Glu Leu Asn Lys Lys Gln Glu Ser Glu Asp Thr Ala
 225 230 235 240
 25 Lys Ala Gly Phe Trp Glu Glu Phe Glu Ser Leu Gln Lys Gln Glu Val
 245 250 255
 Lys Asn Leu His Gln Arg Leu Glu Gly Gln Arg Pro Glu Asn Lys Gly
 260 265 270
 Lys Asn Arg Tyr Lys Asn Ile Leu Pro Phe Asp His Ser Arg Val Ile
 30 275 280 285
 Leu Gln Gly Arg Asp Ser Asn Ile Pro Gly Ser Asp Tyr Ile Asn Ala
 290 295 300
 Asn Tyr Ile Lys Asn Gln Leu Leu Gly Pro Asp Glu Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320
 35 Tyr Ile Ala Ser Gln Gly Cys Leu Glu Ala Thr Val Asn Asp Phe Trp
 325 330 335
 Gln Met Ala Trp Gln Glu Asn Ser Arg Val Ile Val Met Thr Thr Arg
 340 345 350
 Glu Val Glu Lys Gly Arg Asn Lys Cys Val Pro Tyr Trp Pro Glu Val
 40 355 360 365
 Gly Met Gln Arg Ala Tyr Gly Pro Tyr Ser Val Thr Asn Cys Gly Glu
 370 375 380
 His Asp Thr Thr Glu Tyr Lys Leu Arg Thr Leu Gln Val Ser Pro Leu
 385 390 395 400
 45 Asp Asn Gly Asp Leu Ile Arg Glu Ile Trp His Tyr Gln Tyr Leu Ser
 405 410 415
 Trp Pro Asp His Gly Val Pro Ser Glu Pro Gly Gly Val Leu Ser Phe
 420 425 430

RU 2717984 C2

Leu Asp Gln Ile Asn Gln Arg Gln Glu Ser Leu Pro His Ala Gly Pro
 435 440 445
 Ile Ile Val His Cys Ser Ala Gly Ile Gly Arg Thr Gly Thr Ile Ile
 450 455 460
 5 Val Ile Asp Met Leu Met Glu Asn Ile Ser Thr Lys Gly Leu Asp Cys
 465 470 475 480
 Asp Ile Asp Ile Gln Lys Thr Ile Gln Met Val Arg Ala Gln Arg Ser
 485 490 495
 Gly Met Val Gln Thr Glu Ala Gln Tyr Lys Phe Ile Tyr Val Ala Ile
 10 500 505 510
 Ala Gln Phe Ile Glu Thr Thr Lys Lys Leu Glu Val Leu Gln Ser
 515 520 525
 Gln Lys Gly Gln Glu Ser Glu Tyr Gly Asn Ile Thr Tyr Pro Pro Ala
 530 535 540
 15 Met Lys Asn Ala His Ala Lys Ala Ser Arg Thr Ser Ser Lys His Lys
 545 550 555 560
 Glu Asp Val Tyr Glu Asn Leu His Thr Lys Asn Lys Arg Glu Glu Lys
 565 570 575
 Val Lys Lys Gln Arg Ser Ala Asp Lys Glu Lys Ser Lys Gly Ser Leu
 20 580 585 590
 Lys Arg Lys
 595
 <210> 21
 <211> 272
 25 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательность фосфатазного домена из PTPN6
 <400> 21
 30 Phe Trp Glu Glu Phe Glu Ser Leu Gln Lys Gln Glu Val Lys Asn Leu
 1 5 10 15
 His Gln Arg Leu Glu Gly Gln Arg Pro Glu Asn Lys Gly Lys Asn Arg
 20 25 30
 Tyr Lys Asn Ile Leu Pro Phe Asp His Ser Arg Val Ile Leu Gln Gly
 35 35 40 45
 Arg Asp Ser Asn Ile Pro Gly Ser Asp Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr Ile
 50 55 60
 Lys Asn Gln Leu Leu Gly Pro Asp Glu Asn Ala Lys Thr Tyr Ile Ala
 65 70 75 80
 40 Ser Gln Gly Cys Leu Glu Ala Thr Val Asn Asp Phe Trp Gln Met Ala
 85 90 95
 Trp Gln Glu Asn Ser Arg Val Ile Val Met Thr Thr Arg Glu Val Glu
 100 105 110
 Lys Gly Arg Asn Lys Cys Val Pro Tyr Trp Pro Glu Val Gly Met Gln
 45 115 120 125
 Arg Ala Tyr Gly Pro Tyr Ser Val Thr Asn Cys Gly Glu His Asp Thr
 130 135 140
 Thr Glu Tyr Lys Leu Arg Thr Leu Gln Val Ser Pro Leu Asp Asn Gly

RU 2717984 C2

	145	150	155	160
	Asp Leu Ile Arg Glu Ile Trp His Tyr Gln Tyr Leu Ser Trp Pro Asp			
	165	170	175	
	His Gly Val Pro Ser Glu Pro Gly Gly Val Leu Ser Phe Leu Asp Gln			
5	180	185	190	
	Ile Asn Gln Arg Gln Glu Ser Leu Pro His Ala Gly Pro Ile Ile Val			
	195	200	205	
	His Cys Ser Ala Gly Ile Gly Arg Thr Gly Thr Ile Ile Val Ile Asp			
	210	215	220	
10	Met Leu Met Glu Asn Ile Ser Thr Lys Gly Leu Asp Cys Asp Ile Asp			
	225	230	235	240
	Ile Gln Lys Thr Ile Gln Met Val Arg Ala Gln Arg Ser Gly Met Val			
	245	250	255	
	Gln Thr Glu Ala Gln Tyr Lys Phe Ile Tyr Val Ala Ile Ala Gln Phe			
15	260	265	270	
	<210> 22			
	<211> 97			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
20	<220>			
	<223> Эндоциринальный домен PDCD1			
	<400> 22			
	Cys Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln			
	1	5	10	15
25	Pro Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr			
	20	25	30	
	Gly Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val			
	35	40	45	
	Pro Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser			
30	50	55	60	
	Gly Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro			
	65	70	75	80
	Arg Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro			
	85	90	95	
35	Leu			
	<210> 23			
	<211> 141			
	<212> Белок			
	<213> Искусственная последовательность			
40	<220>			
	<223> Эндоциринальный домен BTLA4			
	<400> 23			
	Lys Leu Gln Arg Arg Trp Lys Arg Thr Gln Ser Gln Gln Gly Leu Gln			
	1	5	10	15
45	Glu Asn Ser Ser Gly Gln Ser Phe Phe Val Arg Asn Lys Lys Val Arg			
	20	25	30	
	Arg Ala Pro Leu Ser Glu Gly Pro His Ser Leu Gly Cys Tyr Asn Pro			
	35	40	45	

Met Met Glu Asp Gly Ile Ser Tyr Thr Thr Leu Arg Phe Pro Glu Met
 50 55 60

Asn Ile Pro Arg Thr Gly Asp Ala Glu Ser Ser Glu Met Gln Arg Pro
 65 70 75 80

⁵ Pro Pro Asp Cys Asp Asp Thr Val Thr Tyr Ser Ala Leu His Lys Arg
 85 90 95

Gln Val Gly Asp Tyr Glu Asn Val Ile Pro Asp Phe Pro Glu Asp Glu
 100 105 110

Gly Ile His Tyr Ser Glu Leu Ile Gln Phe Gly Val Gly Glu Arg Pro
¹⁰ 115 120 125

Gln Ala Gln Glu Asn Val Asp Tyr Val Ile Leu Lys His
 130 135 140

<210> 24

<211> 168

¹⁵ <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Эндодомен LILRB1

<400> 24

²⁰ Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln Arg Lys
 1 5 10 15

Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro Thr Asp
 20 25 30

Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln Glu Glu
²⁵ 35 40 45

Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys His Thr Gln Pro Glu Asp Gly Val Glu
 50 55 60

Met Asp Thr Arg Ser Pro His Asp Glu Asp Pro Gln Ala Val Thr Tyr
 65 70 75 80

³⁰ Ala Glu Val Lys His Ser Arg Pro Arg Arg Glu Met Ala Ser Pro Pro
 85 90 95

Ser Pro Leu Ser Gly Glu Phe Leu Asp Thr Lys Asp Arg Gln Ala Glu
 100 105 110

Glu Asp Arg Gln Met Asp Thr Glu Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln
³⁵ 115 120 125

Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Glu Ala
 130 135 140

Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln Glu Gly Pro Ser Pro Ala Val Pro Ser
 145 150 155 160

⁴⁰ Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile His
 165

<210> 25

<211> 101

<212> Белок

⁴⁵ <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Эндодомен LAIR1

<400> 25

RU 2717984 C2

	His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp Glu		
1	5	10	15
	Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu Glu		
	20	25	30
5	Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp Arg		
	35	40	45
	Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val Thr		
	50	55	60
	Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg Ala		
10	65	70	75
	Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr Ala		
	85	90	95
	Ala Val Ala Arg His		
	100		
15	<210> 26		
	<211> 62		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
20	<223> Эндодомен CTLA4		
	<400> 26		
	Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe Tyr		
1	5	10	15
	Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys Arg		
25	20	25	30
	Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu Pro		
	35	40	45
	Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn		
	50	55	60
30	<210> 27		
	<211> 111		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
35	<223> Эндодомен KIR2DL1		
	<400> 27		
	Gly Asn Ser Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile		
1	5	10	15
	Ile Pro Phe Ala Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ala		
40	20	25	30
	Asn Lys Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg		
	35	40	45
	Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val Thr		
	50	55	60
45	Tyr Thr Gln Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg		
	65	70	75
	Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Ile Ile Val Tyr Thr		
	85	90	95

Glu Leu Pro Asn Ala Glu Ser Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro
 100 105 110

<210> 28
 <211> 143

5 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Эндодомен KIR2DL4
 <400> 28

10 Gly Ile Ala Arg His Leu His Ala Val Ile Arg Tyr Ser Val Ala Ile
 1 5 10 15

Ile Leu Phe Thr Ile Leu Pro Phe Phe Leu Leu His Arg Trp Cys Ser
 20 25 30

Lys Lys Lys Glu Asn Ala Ala Val Met Asn Gln Glu Pro Ala Gly His
15 35 40 45

Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln Glu Val
 50 55 60

Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Cys Ile Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr
 65 70 75 80

20 Gly Pro Ser Gln Arg Ser Lys Arg Pro Ser Thr Asp Thr Ser Val Cys
 85 90 95

Ile Glu Leu Pro Asn Ala Glu Pro Arg Ala Leu Ser Pro Ala His Glu
 100 105 110

His His Ser Gln Ala Leu Met Gly Ser Ser Arg Glu Thr Thr Ala Leu
25 115 120 125

Ser Gln Thr Gln Leu Ala Ser Ser Asn Val Pro Ala Ala Gly Ile
 130 135 140

<210> 29
 <211> 143

30 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Эндодомен KIR2DL5
 <400> 29

35 Thr Gly Ile Arg Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Ala
 1 5 10 15

Ile Ile Leu Phe Ile Ile Leu Phe Phe Leu Leu His Cys Cys Cys
 20 25 30

Ser Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asp
40 35 40 45

Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Asp Gln Asp Pro Gln Glu Val
 50 55 60

Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Cys Val Phe Thr Gln Thr Lys Ile Thr
 65 70 75 80

45 Ser Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Thr Thr Met Tyr
 85 90 95

Met Glu Leu Pro Asn Ala Lys Pro Arg Ser Leu Ser Pro Ala His Lys
 100 105 110

His His Ser Gln Ala Leu Arg Gly Ser Ser Arg Glu Thr Thr Ala Leu
 115 120 125
 Ser Gln Asn Arg Val Ala Ser Ser His Val Pro Ala Ala Gly Ile
 130 135 140
 5 <210> 30
 <211> 111
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 10 <223> Эндо домен KIR3DL1
 <400> 30
 Lys Asp Pro Arg His Leu His Ile Leu Ile Gly Thr Ser Val Val Ile
 1 5 10 15
 Ile Leu Phe Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Leu Trp Cys Ser
 15 20 25 30
 Asn Lys Lys Asn Ala Ala Val Met Asp Gln Glu Pro Ala Gly Asn Arg
 35 40 45
 Thr Ala Asn Ser Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Glu Glu Val Thr
 50 55 60
 20 Tyr Ala Gln Leu Asp His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys Ile Thr Arg
 65 70 75 80
 Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Thr Ile Leu Tyr Thr
 85 90 95
 Glu Leu Pro Asn Ala Lys Pro Arg Ser Lys Val Val Ser Cys Pro
 25 100 105 110
 <210> 31
 <211> 97
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 30 <220>
 <223> Эндо домен KIR3DL3
 <400> 31
 Lys Asp Pro Gly Asn Ser Arg His Leu His Val Leu Ile Gly Thr Ser
 1 5 10 15
 35 Val Val Ile Ile Pro Phe Ala Ile Leu Leu Phe Phe Leu Leu His Arg
 20 25 30
 Trp Cys Ala Asn Lys Lys Asn Ala Val Val Met Asp Gln Glu Pro Ala
 35 40 45
 Gly Asn Arg Thr Val Asn Arg Glu Asp Ser Asp Glu Gln Asp Pro Gln
 40 50 55 60
 Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asn His Cys Val Phe Thr Gln Arg Lys
 65 70 75 80
 Ile Thr Arg Pro Ser Gln Arg Pro Lys Thr Pro Pro Thr Asp Thr Ser
 85 90 95
 45 Val
 <210> 32
 <211> 807
 <212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Слитный белок PTPN6-CD45

<400> 32

5	Trp Tyr His His Met Ser Gly Gly Gln Ala Glu Thr Leu Leu Gln				
1	1	5	10	15	
	Ala Lys Gly Glu Pro Trp Thr Phe Leu Val Arg Glu Ser Leu Ser Gln				
	20		25	30	
10	Pro Gly Asp Phe Val Leu Ser Val Leu Ser Asp Gln Pro Lys Ala Gly				
	35		40	45	
	Pro Gly Ser Pro Leu Arg Val Thr His Ile Lys Val Met Cys Glu Gly				
	50		55	60	
	Gly Arg Tyr Thr Val Gly Gly Leu Glu Thr Phe Asp Ser Leu Thr Asp				
	65		70	75	80
15	Leu Val Glu His Phe Lys Lys Thr Gly Ile Glu Glu Ala Ser Gly Ala				
	85		90	95	
	Phe Val Tyr Leu Arg Gln Pro Tyr Lys Ile Tyr Asp Leu His Lys Lys				
	100		105	110	
20	Arg Ser Cys Asn Leu Asp Glu Gln Gln Glu Leu Val Glu Arg Asp Asp				
	115		120	125	
	Glu Lys Gln Leu Met Asn Val Glu Pro Ile His Ala Asp Ile Leu Leu				
	130		135	140	
	Glu Thr Tyr Lys Arg Lys Ile Ala Asp Glu Gly Arg Leu Phe Leu Ala				
	145		150	155	160
25	Glu Phe Gln Ser Ile Pro Arg Val Phe Ser Lys Phe Pro Ile Lys Glu				
	165		170	175	
	Ala Arg Lys Pro Phe Asn Gln Asn Lys Asn Arg Tyr Val Asp Ile Leu				
	180		185	190	
	Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Glu Leu Ser Glu Ile Asn Gly Asp Ala				
30	195		200	205	
	Gly Ser Asn Tyr Ile Asn Ala Ser Tyr Ile Asp Gly Phe Lys Glu Pro				
	210		215	220	
	Arg Lys Tyr Ile Ala Ala Gln Gly Pro Arg Asp Glu Thr Val Asp Asp				
	225		230	235	240
35	Phe Trp Arg Met Ile Trp Glu Gln Lys Ala Thr Val Ile Val Met Val				
	245		250	255	
	Thr Arg Cys Glu Glu Gly Asn Arg Asn Lys Cys Ala Glu Tyr Trp Pro				
	260		265	270	
	Ser Met Glu Glu Gly Thr Arg Ala Phe Gly Asp Val Val Val Lys Ile				
40	275		280	285	
	Asn Gln His Lys Arg Cys Pro Asp Tyr Ile Ile Gln Lys Leu Asn Ile				
	290		295	300	
	Val Asn Lys Lys Glu Lys Ala Thr Gly Arg Glu Val Thr His Ile Gln				
	305		310	315	320
45	Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Glu Asp Pro His Leu Leu				
	325		330	335	
	Leu Lys Leu Arg Arg Arg Val Asn Ala Phe Ser Asn Phe Phe Ser Gly				
	340		345	350	

RU 2717984 C2

	Pro Ile Val Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Tyr		
	355	360	365
	Ile Gly Ile Asp Ala Met Leu Glu Gly Leu Glu Ala Glu Asn Lys Val		
	370	375	380
5	Asp Val Tyr Gly Tyr Val Val Lys Leu Arg Arg Gln Arg Cys Leu Met		
	385	390	395
	Val Gln Val Glu Ala Gln Tyr Ile Leu Ile His Gln Ala Leu Val Glu		
	405	410	415
	Tyr Asn Gln Phe Gly Glu Thr Glu Val Asn Leu Ser Glu Leu His Pro		
10	420	425	430
	Tyr Leu His Asn Met Lys Lys Arg Asp Pro Pro Ser Glu Pro Ser Pro		
	435	440	445
	Leu Glu Ala Glu Phe Gln Arg Leu Pro Ser Tyr Arg Ser Trp Arg Thr		
	450	455	460
15	Gln His Ile Gly Asn Gln Glu Glu Asn Lys Ser Lys Asn Arg Asn Ser		
	465	470	475
	Asn Val Ile Pro Tyr Asp Tyr Asn Arg Val Leu Lys His Glu Leu Glu		
	485	490	495
	Met Ser Lys Glu Ser Glu His Asp Ser Asp Glu Ser Ser Asp Asp Asp		
20	500	505	510
	Ser Asp Ser Glu Glu Pro Ser Lys Tyr Ile Asn Ala Ser Phe Ile Met		
	515	520	525
	Ser Tyr Trp Lys Pro Glu Val Met Ile Ala Ala Gln Gly Pro Leu Lys		
	530	535	540
25	Glu Thr Ile Gly Asp Phe Met Ile Gln Arg Lys Val Lys Val Ile Val		
	545	550	555
	Met Leu Thr Glu Leu Lys His Gly Asp Gln Glu Ile Cys Ala Gln Tyr		
	565	570	575
	Trp Gly Glu Gly Lys Gln Thr Tyr Gly Asp Ile Glu Val Asp Leu Lys		
30	580	585	590
	Asp Thr Asp Lys Ser Ser Thr Tyr Thr Leu Arg Val Phe Glu Leu Arg		
	595	600	605
	His Ser Lys Arg Lys Asp Ser Arg Thr Val Tyr Gln Tyr Gln Tyr Thr		
	610	615	620
35	Asn Trp Ser Val Glu Gln Leu Pro Ala Glu Pro Lys Glu Leu Ile Ser		
	625	630	635
	Met Ile Gln Val Val Lys Gln Lys Leu Pro Gln Lys Asn Ser Ser Glu		
	645	650	655
	Gly Asn Lys His His Lys Ser Thr Pro Leu Leu Ile His Cys Arg Asp		
40	660	665	670
	Gly Ser Gln Gln Thr Gly Ile Phe Cys Ala Leu Leu Asn Leu Leu Glu		
	675	680	685
	Ser Ala Glu Thr Glu Glu Val Val Asp Ile Phe Gln Val Val Lys Ala		
	690	695	700
45	Leu Arg Lys Ala Arg Pro Gly Met Val Ser Thr Phe Glu Gln Tyr Gln		
	705	710	715
	Phe Leu Tyr Asp Val Ile Ala Ser Thr Tyr Pro Ala Gln Asn Gly Gln		
	725	730	735

RU 2717984 C2

Val Lys Lys Asn Asn His Gln Glu Asp Lys Ile Glu Phe Asp Asn Glu
 740 745 750
 Val Asp Lys Val Lys Gln Asp Ala Asn Cys Val Asn Pro Leu Gly Ala
 755 760 765
 5 Pro Glu Lys Leu Pro Glu Ala Lys Glu Gln Ala Glu Gly Ser Glu Pro
 770 775 780
 Thr Ser Gly Thr Glu Gly Pro Glu His Ser Val Asn Gly Pro Ala Ser
 785 790 795 800
 Pro Ala Leu Asn Gln Gly Ser
 10 805
 <210> 33
 <211> 434
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 15 <220>
 <223> Слитный белок PTPN6-CD148
 <400> 33
 Glu Thr Leu Leu Gln Ala Lys Gly Glu Pro Trp Thr Phe Leu Val Arg
 1 5 10 15
 20 Glu Ser Leu Ser Gln Pro Gly Asp Phe Val Leu Ser Val Leu Ser Asp
 20 25 30
 Gln Pro Lys Ala Gly Pro Gly Ser Pro Leu Arg Val Thr His Ile Lys
 35 40 45
 Val Met Cys Glu Gly Arg Tyr Thr Val Gly Gly Leu Glu Thr Phe
 25 50 55 60
 Asp Ser Leu Thr Asp Leu Val Glu His Phe Lys Lys Thr Gly Ile Glu
 65 70 75 80
 Glu Ala Ser Gly Ala Phe Val Tyr Leu Arg Gln Pro Tyr Arg Lys Lys
 85 90 95
 30 Arg Lys Asp Ala Lys Asn Asn Glu Val Ser Phe Ser Gln Ile Lys Pro
 100 105 110
 Lys Lys Ser Lys Leu Ile Arg Val Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Phe Lys
 115 120 125
 Lys Gln Gln Ala Asp Ser Asn Cys Gly Phe Ala Glu Glu Tyr Glu Asp
 35 130 135 140
 Leu Lys Leu Val Gly Ile Ser Gln Pro Lys Tyr Ala Ala Glu Leu Ala
 145 150 155 160
 Glu Asn Arg Gly Lys Asn Arg Tyr Asn Asn Val Leu Pro Tyr Asp Ile
 165 170 175
 40 Ser Arg Val Lys Leu Ser Val Gln Thr His Ser Thr Asp Asp Tyr Ile
 180 185 190
 Asn Ala Asn Tyr Met Pro Gly Tyr His Ser Lys Lys Asp Phe Ile Ala
 195 200 205
 Thr Gln Gly Pro Leu Pro Asn Thr Leu Lys Asp Phe Trp Arg Met Val
 45 210 215 220
 Trp Glu Lys Asn Val Tyr Ala Ile Ile Met Leu Thr Lys Cys Val Glu
 225 230 235 240
 Gln Gly Arg Thr Lys Cys Glu Glu Tyr Trp Pro Ser Lys Gln Ala Gln

	245	250	255
Asp Tyr Gly Asp Ile Thr Val Ala Met Thr Ser Glu Ile Val Leu Pro			
	260	265	270
Glu Trp Thr Ile Arg Asp Phe Thr Val Lys Asn Ile Gln Thr Ser Glu			
	275	280	285
Ser His Pro Leu Arg Gln Phe His Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly			
	290	295	300
Val Pro Asp Thr Thr Asp Leu Leu Ile Asn Phe Arg Tyr Leu Val Arg			
	305	310	315
Asp Tyr Met Lys Gln Ser Pro Pro Glu Ser Pro Ile Leu Val His Cys			
	325	330	335
Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Thr Phe Ile Ala Ile Asp Arg Leu			
	340	345	350
Ile Tyr Gln Ile Glu Asn Glu Asn Thr Val Asp Val Tyr Gly Ile Val			
	355	360	365
Tyr Asp Leu Arg Met His Arg Pro Leu Met Val Gln Thr Glu Asp Gln			
	370	375	380
Tyr Val Phe Leu Asn Gln Cys Val Leu Asp Ile Val Arg Ser Gln Lys			
	385	390	395
Asp Ser Lys Val Asp Leu Ile Tyr Gln Asn Thr Thr Ala Met Thr Ile			
	405	410	415
Tyr Glu Asn Leu Ala Pro Val Thr Thr Phe Gly Lys Thr Asn Gly Tyr			
	420	425	430
Ile Ala			
Asn Pro Gly Pro			
	20		
<210> 34			
<211> 20			
<212> Белок			
<213> Вирус ящура			
<400> 34			
Arg Ala Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu			
	1	5	10
			15
Asn Pro Gly Pro			
	20		
<210> 35			
<211> 3390			
<212> ДНК			
<213> Искусственная последовательность			
<220>			
<223> Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR			
	(MP13974.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3pvaa-CD		
	28tmZw)		
<400> 35			
atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgccaga			60
ccagacatcc agatgaccca gaccaccaggc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg			120
45 accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag			180
cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc			240
agccgggtca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag			300
caggaggaca tcgcccaccta cttctgcccag cagggcaaca ccctgcccta caccttcgga			360

	ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcg aggccgc 420
	ggcggaggcg gctctggcg aggccgcagc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccaggc 480
	ctggctggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccg tgagcggcgt gagcctgccc 540
5	gactacggcg tgagctggat caggcagccc ccacggaagg gcctggagtg gctggcgtg 600
	atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccgc gaccatcatc 660
	aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc 720
	gccatctact actgcgc当地 gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg 780
	ggccaggc当地 ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgccc当地 gccgc当地 840
10	ccaacaccgg cgccccaccat cgcgtc当地 cccctgtccc tgccccc当地 ggcgtgccc当地 900
	ccagcggc当地 ggggccc当地 ggc当地 cggact tcgc当地 tgc当地 tatcttttgg 960
	gtgctggtgg tgggtggtgg agtc当地 tggct 1020
	attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgccc cgc当地 accag 1080
	cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1140
	ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggaa agccgagaag gaagaaccct 1200
15	caggaaggcc tgtacaatga actgc当地 gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1260
	gggatgaaaag gcgagc当地 gagggccaaag gggcacgatg gc当地 ttacca gggctc当地 1320
	acagccacca aggacaccta cgacgccc当地 cacatgc当地 cc当地 tc当地 gagagcc 1380
	gagggc当地 gaggtcttct aacatgc当地 gacgtggagg aaaatccc当地 gccc当地 tggcc 1440
	gtgccc当地 aggtc当地 tggcttctg gttgtt当地 ctgtggctta cagatgccag atgtgacatc 1500
20	cagatgacac agtctccatc ttccctgtct gcatctgtcg gagatc当地 caccatcacc 1560
	tgtc当地 gagcaa gtgaggacat ttattttaat tttagt当地 ttgtt当地 atcagc当地 accaggaaag 1620
	gccc当地 taagc tc当地 ct当地 tgatacaat cgctt当地 gagatggccc当地 atc当地 acgg 1680
	agtggctctg gatctggcac acagtatact ctaaccataa gtagc当地 tgc当地 accc当地 gaagat 1740
	ttcgcaacct attattgtca acactataag aattatccgc tcacgttc当地 tc当地 aggggacc 1800
25	aagctggaaa tcaaaaagatc tggc当地 gggtc当地 caggag gggtc当地 caggagc当地 cggaggc当地 1860
	ggctc当地 ggggag gccc当地 ggggctc gagatctgag gt当地 cagttgg tggaggctc当地 gggc当地 gctt 1920
	gtgc当地 cctg gagggctcc local gaggctc当地 tgc当地 cagc当地 caggattc当地 tctc当地 cagtaat 1980
	tatggcatgc actggatc当地 gc当地 gaggtcc当地 gggagggtc tggaggctt当地 ct当地 ct当地 tattt 2040
	agtcttaatg gtggtagc当地 ttactatc当地 gactccgtc当地 agggcc当地 cactatc当地 tcc 2100
30	agggacaatg caaaaagcac cctctacctt caaatgaaata gtctgaggc当地 cgaggacacg 2160
	gccgtctatt actgtc当地 cagggacgct tatacgggag gttactttgaa ttactggggc当地 2220
	caaggaacgc tggcacatg ctc当地 ct当地 gatccc当地 ccc当地 agcccaaatc tc当地 tgc当地 caaaa 2280
	actcacacat gccc当地 accgtg cccagcacct cccgtggccg gccc当地 ct当地 cttc当地 ct当地 cccccc 2340
	ccccc当地 caaggacac cctcatgatc gccc当地 gaggtc当地 atgc当地 tgggtg 2400
35	gtggacgtc当地 gccacgaa当地 cc当地 tgggtc当地 aagttcaact ggtacgtggc当地 cggc当地 tggg 2460
	gtgc当地 ataatg ccaagaca当地 gccc当地 ggggag gagc当地 gtc当地 acagc当地 cgtc当地 tgggtc 2520
	agcgtctca cc当地 tgggtc当地 cc当地 aggactgg ct当地 gaatggc当地 aggaggtaaa gtc当地 aagggtc 2580
	tccaaacaag cc当地 tccc当地 gagc当地 cccatc当地 gagaaaaccatc ccaaaagccaa agggc当地 gagccc 2640
	cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tccc当地 gggtatc agctgaccaa gaaccaggc当地 2700
40	agcctgaccc gc当地 tgggtc当地 aggcttctat cccagc当地 gaca tc当地 gggc当地 tgggagagc 2760
	aatgggcaac cggagaacaa当地 ctacaagacc acgc当地 cccctccg tgctggactc cgacggctcc当地 2820
	ttcttc当地 ct当地 acagc当地 agt caccgtggac aagagcaggta ggc当地 agcagg 2880
	tcatgtccg tggatc当地 tgc当地 ggccctglocal caccgtggac aatcactata cccagaaatc tctgagtc当地 2940
	agccc当地 caggca agaaggaccc caagttctgg gtc当地 tgggtggagg cgtgctggcc当地 3000
45	tgttactctc tc当地 tgggtc当地 cgtggc当地 ttc当地 atcatctttt gggtgc当地 cctc当地 cccgg 3060
	ttttctcgct ct当地 gccgatgc cccagc当地 ttc当地 cagcaggcc当地 agaatac当地 gtc当地 tgggtgg 3120
	ctgaacctgg gc当地 aggccgggaa ggagtacgac gtc当地 tgggtggata agcggagagg cagagacccc当地 3180
	gagatgggagc当地 gcaaaaccacg ggc当地 caaaaat cccaggagg gactctataa cgagc当地 tggc当地 3240

	aaggacaaaa tggccgaggc ctattccgag atcggcatga agggagagag aagacgcgga	3300
	aagggccacg acggcctgta tcagggattg tccaccgcta caaaagatac atatgatgcc	3360
	ctgcacatgc aggccctgcc acccagatga	3390
	<210> 36	
5	<211> 5154	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
10	<223> Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR (MP14802.SFG.aCD19fmc63_clean-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3p vaa-dCD45)	
	<400> 36	
	atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgcccaga	60
	ccagacatcc agatgaccca gaccaccaggc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg	120
15	accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag	180
	cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc	240
	agccggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag	300
	caggaggaca tcgcccaccta cttctgcccag cagggcaaca ccctgcccata caccttcgga	360
	ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccgctct	420
20	ggcggaggcg gctctggcgg aggcggcagc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccaggc	480
	ctggtgccca caagccagag cctgagcgtg acctgcaccg tgagcggcgt gaggctgccc	540
	gactacggcg tgagctggat caggcagccc ccacggaagg gcctggagtg gctggcgtg	600
	atctggggca gcggagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc	660
	aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc	720
25	gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg	780
	ggccaggcgca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgccagc gccgcgacca	840
	ccaacaccgg cgccccaccat cgcgtcgca cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgcccgg	900
	ccagcggcg ggccgcgcgt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctttgg	960
	gtgctggtgg tgggtggtgg agtcctggct tgctatact tgctagtaac agtggccttt	1020
30	attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgctgtaccag	1080
	cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt	1140
	ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct	1200
	caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt	1260
	gggatgaaag gcggcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggctcgt	1320
35	acagccacca aggacaccta cgacgcctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc	1380
	gagggcaggc gaagtcttct aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccg gcccattggcc	1440
	gtgcccactc agtcctggg gttgttgcta ctgtggctta cagatgccag atgtgacatc	1500
	cagatgacac agtctccatc ttccctgtct gcatctgtcg gagatcgcgt caccatcacc	1560
	tgtcgagcaa gtgaggacat ttattttat ttagtgtgtt atcagcagaa accaggaaag	1620
40	gcccctaagc tcctgatcta tgatacaa at cgcttggcag atggggtccc atcacggttc	1680
	agtggctctg gatctggcac acagtatact ctaaccataa gtgcctgca acccgaagat	1740
	ttcgcaacct attattgtca acactataag aattatccgc tcacgttcgg tcaggggacc	1800
	aagctggaaa tcaaaaagatc tggtggcggaa gggtcaggag gcggaggcag cggaggcggt	1860
	ggctcggag gcggaggctc gagatctgag gtgcagttgg tggagtctgg gggcggcttg	1920
45	gtgcagcctg gagggtccct gaggctctcc tgtgcagcct caggattcac tctcagtaat	1980
	tatggcatgc actggatcg gcaggctcca gggaaagggtc tggagtgggt ctcgtctatt	2040
	agtcttaatg gtggtagcac ttactatcga gactccgtga agggccgatt cactatctcc	2100
	agggacaatg caaaaagcac cctctacctt caaatgaata gtctgaggcgc cgaggacacg	2160

	gccgtctatt actgtgcagc acaggacgct tatacgggag gttactttga ttactggggc	2220
	caaggaacgc tggcacagt ctcgtctatg gatcccgccg agcccaaata tcctgacaaa	2280
	actcacacat gccaccgtg cccagcacct cccgtggccg gcccgtcagt ctcccttcc	2340
	cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc gcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg	2400
5	gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag	2460
	gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggc	2520
	agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggc	2580
	tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc	2640
	cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccggatg agctgaccaa gaaccaggc	2700
10	agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgcccgtgga gtgggagagc	2760
	aatgggcaac cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc	2820
	ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtctc	2880
	tcatgtccg ttagtgcata ggcctgcac aatcactata cccagaaatc tctgagttcg	2940
	agcccaggca agaaggaccc caaggcactg atagcattt tggcatttct gattattgtg	3000
15	acatcaatag ccctgcttgt tgttctctac aaaatctatg atctacataa gaaaagatcc	3060
	tgcaatttag atgaacagca ggagcttgtt gaaagggatg ataaaaaaca actgatgaat	3120
	gtggagccaa tccatgcaga tattttgtt gaaacttata agaggaagat tgctgatgaa	3180
	ggaagacttt ttctggctga atttcagagc atcccgccgg tgttcagcaa gtttcctata	3240
	aaggaagctc gaaagccctt taaccagaat aaaaaccgtt atgttgacat tcttccttat	3300
20	gattataacc gtgttgaact ctctgagata aacggagatg cagggtaaaa ctacataaaat	3360
	gccagctata ttgatggttt caaagaaccc aggaataaca ttgctgcaca aggtcccagg	3420
	gatgaaactg ttgatgattt ctggaggatg atttgggaac agaaagccac agttattgtc	3480
	atggtcactc gatgtgaaga aggaaacagg aacaagtgtg cagaataactg gccgtcaatg	3540
	gaagagggca ctcgggcttt tggagatgtt gttgtaaaga tcaaccagca caaaagatgt	3600
25	ccagattaca tcattcagaa attgaacatt gtaaataaaa aagaaaaagc aactggaaaga	3660
	gaggtgactc acattcagtt caccagctgg ccagaccacg ggggtcctga ggatcctcac	3720
	ttgctcctca aactgagaag gagagtgaat gccttcagca atttcttcag tggcccatt	3780
	gtggtgcaact gcagtgtctgg tgttggcgc acaggaacct atatcgaaat tgatgccatg	3840
	ctagaaggcc tggaaagccga gaacaaagtg gatgtttatg gttatgttgc caagctaagg	3900
30	cgacagagat gcctgatggt tcaagtagag gcccagtaca tcttgatcca tcaggctttg	3960
	gtgaaataca atcagtttg agaaacagaa gtgaatttgc ctgaattaca tccatatcta	4020
	cataacatga agaaaaggaa tccacccagt gagccgtctc cactagaggc tgaattccag	4080
	agacttcctt catataggag ctggaggaca cagcacattg gaaatcaaga agaaaataaaa	4140
	agtaaaaaca ggaattctaa tgtcatccca tatgactata acagagtgcc acttaaacat	4200
35	gagctggaaa tgtagtaaaga gagtgagcat gattcagatg aatcctctga tgatgacagt	4260
	gattcagagg aaccaagcaa atacatcaat gcatctttta taatgagcta ctggaaacact	4320
	gaagtgtatga ttgctgctca gggaccactg aaggagacca ttggtgactt ttggcagatg	4380
	atcttcctt gaaaagtcaa agttattgtt atgctgacag aactgaaaca tggagaccag	4440
	gaaatctgtg ctcagttactg gggagaagga aagcaaacat atggagatat tgaagttgac	4500
40	ctgaaagaca cagacaaatc ttcaacttat acccttcgtg tcttgact gagacattcc	4560
	aagagggaaag actctcgaac tgtgtaccag taccaatata caaactggag tgtggagcag	4620
	cttcctgcag aacccaagga attaatctct atgattcagg tcgtcaaaca aaaacttccc	4680
	cagaagaatt cctctgaagg gaacaagcat cacaagagta cacctctact cattcactgc	4740
	agggatggat ctcagcaaac gggaaatattt tgtctttgt taaatctctt agaaagtgcg	4800
45	gaaacagaag aggttagtgaa tattttcaa gtggtaaaag ctctacgcaa agcttaggcca	4860
	ggcatggttt ccacattcga gcaatataa ttcctatatac acgtcattgc cagcacctac	4920
	cctgctcaga atggacaagt aaagaaaaac aaccatcaag aagataaaaat tgaatttgat	4980
	aatgaagtgg acaaagtaaa gcaggatgct aattgtgttta atccacttgg tgccccagaa	5040

	aagctccctg aagcaaaggaa acaggctgaa gttctgaac ccacgagtgg cactgagggg ccagaacatt ctgtcaatgg tcctgcaagt ccagctttaa atcaagggttc atag <210> 37	5100 5154
	<211> 4053	
5	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR (MP14801.SFG.aCD19fmc63_clean-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3p 10 vaa-dCD148)	
	<400> 37	
	atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgccaga ccagacatcc agatgaccca gaccaccagc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg accatca gctgaccccgcc accatca gctgaccccgcc	60 120 180
15	cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc agccgggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatca gAACCTGGAG caggaggaca tcgcccccta cttctgccag cagggcaaca ccctgcccata cacccctgg ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccggct ggcggaggcg gctctggcgg aggccggcagc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccaggc	240 300 360 420 480
20	ctggcggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccg tgagcggcgt gaggcctgccc gactacggcg ttagctggat caggcagccc ccacggaaagg gcctggagtg gctggcgt atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg	540 600 660 720 780
25	ggccaggcgca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgcccgg gccgcgacca ccaaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgca gcccgttccc tgcccccaga ggcgtggcgg ccagcggcgg gggcgcagt gcacacgagg gggctggact tgccctgtga tatctttgg gtgctgggtgg tgggtgggtgg agtctggct tgctatagct tgctagtaac agtggcctt attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcttaccag	840 900 960 1020 1080
30	caggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt gggatgaaag gcgagcggcc gaggggcaag gggcacatg gcctttacca gggctctagt acagccacca aggacaccta cgacgcctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc	1140 1200 1260 1320 1380
35	gagggcaggaa gaagtcttct aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccgg gcccattggcc gtgcccactc aggtctggg gttgttgcta ctgtggctta cagatgccag atgtgacatc cagatgacac agtctccatc ttccctgtct gcatctgtcg gagatcgcgt caccatcacc tgtcgagca gtgaggacat ttatTTTAAAT ttatgtgtgtt atcagcagaa accaggaaag gcccctaagc tcctgatcta tgatacaat cgcttggcag atgggtccc atcacgggttcc	1440 1500 1560 1620 1680
40	agtggctctg gatctggcac acagtataact ctaaccataa gtgcctgca acccgaagat ttcgcaacct attattgtca acactataag aattatccgc tcacgttccg tcaggggacc aagctggaaa tcaaaaagatc tgggtggcggaa gggtcaggag gcggaggcag cggaggcgg ggctcgggag gcgaggcgtc gagatctgag gtgcagttgg tggagtctgg gggcggcttg gtgcagcctg gagggtccct gaggctctcc tgtgcagcct caggattcac tctcagtaat	1740 1800 1860 1920 1980
45	tatggcatgc actggatcag gcaggctcca gggaaagggtc tggagtgggt ctgcgttatt agtcttaatg gtggtagcac ttactatcga gactccgtga agggccgatt cactatctcc agggacaatg caaaaagcac cctctacctt caaatgaata gtctgagggc cgaggacacg gccgttattt actgtgcagc acaggacgct tatacgggag gttactttga ttactggggc	2040 2100 2160 2220

	caaggaacgc tggcacagt ctcgtctatg gatcccggcg agcccaaata tcctgacaaa	2280
	actcacacat gcccaccgtg cccagcacct cccgtggccg gcccgtcagt cttcctcttc	2340
	cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc gcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg	2400
5	gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggta aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag	2460
	gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgtc ccgtgtggc	2520
	agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggc	2580
	tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc	2640
	cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccggatg agctgaccaa gaaccaggc	2700
10	agcctgaccc gcctggtcaa aggcttctat cccagcgcaca tcgcccgtgga gtgggagagc	2760
	aatgggcaac cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc	2820
	ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtctc	2880
	tcatgctccg ttagtgcata ggcctgcac aatcaactata cccagaaatac tctgagtctg	2940
	agcccaggca agaaggaccc caaggcggtt ttggctgtt tctttggc cctggattt	3000
	gtgactgtgg gaggcttcat cttctggaga aagaagagga aagatgcaaa gaataatgaa	3060
15	gtgtcccttt ctcaaattaa acctaaaaaa tctaagttaa tcagagtgga gaattttgag	3120
	gcctacttca agaaggcaca agctgactcc aactgtgggt tcgcagagga atacgaagat	3180
	ctgaagcttgc ttggatttag tcaacctaaa tatgcagcag aactggctga gaatagagga	3240
	aagaatcgct ataataatgt tctgcctat gatattttcc gtgtcaaact ttggccag	3300
	accattcaa cggatgacta catcaatgcc aactacatgc ctggctacca ctccaagaaa	3360
20	gattttattt ccacacaagg acctttaccg aacactttga aagatttttgcgtatggtt	3420
	ttggagaaaa atgttatatgc catcattatg ttgactaaat gtgttgaaca gggagaacc	3480
	aaatgtgagg agtattggcc ctccaaggcag gctcaggact atggagacat aactgtggca	3540
	atgacatcag aaattgttct tccggatgg accatcagag atttcacagt gaaaaatatac	3600
	cagacaagtg agagtcaccc tctgagacag ttccatttca ctcctggcc agaccacgg	3660
25	gttcccgaca ccactgaccc gctcatcaac ttccgggtacc tcgttcgtga ctacatgaag	3720
	cagagtcctc ccgaatcgcc gattctgggtg cattgcagtg ctggggtcgg aaggacgggc	3780
	actttcattt ccattgtatcg tctcatctac cagatagaga atgagaacac cgtggatgtg	3840
	tatgggatttgc ttagtgcacct tcgaatgcatttgc ggcctttaa tggtgcagac agaggaccag	3900
	tatgtttcc tcaatcagtg tggtttggat attgtcagat cccagaaaga ctcaaaagta	3960
30	gatcttatct accagaacac aactgcaatg acaatctatg aaaaccttgc gcccgtgacc	4020
	acatttggaa agaccaatgg ttacatcgcc taa	4053
	<210> 38	
	<211> 3345	
	<212> ДНК	
35	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR (16076.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-tm-dPTP N6)	
40	<400> 38	
	atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgcccaga	60
	ccagacatcc agatgaccca gaccaccaggc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg	120
	accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag	180
	cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc	240
45	agccgggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag	300
	caggaggaca tcgcccaccta cttctgcccag cagggcaaca ccctgcccata cacttcggga	360
	ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccgctct	420
	ggcggaggcg gctctggcgg aggccggcagc gaggtgaagc tgcaggagtc tggccaggc	480

	ctgggtggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccc tgagcggcgt gaggcctgccc	540
	gactacggcg tgagctggat caggcagccc ccacggaagg gcctggagtg gctgggcgt	600
	atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc	660
	aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc	720
5	gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg	780
	ggccaggggca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgccagc gccgcgacca	840
	ccaacaccgg cgccccaccat cgcgtcgag cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgcccgg	900
	ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctttgg	960
	gtgctggtgg tgggtggtgg agtcctggct tgctatagtc tgctagtaac agtggccttt	1020
10	attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgctgtaccag	1080
	cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt	1140
	ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct	1200
	caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt	1260
	gggatgaaaag gcgagcgcgg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt	1320
15	acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc	1380
	gagggcaggg gaagtcttct aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccg gccccatggcc	1440
	gtgcccactc agtctctggg gttgttgcta ctgtggctta cagatgccag atgtgacatc	1500
	cagatgacac agtctccatc ttccctgtct gcatctgtcg gagatgcgt caccatcacc	1560
	tgtcgagcaa gtgaggacat ttatttaat ttagtgtgtt atcagcagaa accaggaaag	1620
20	gcccctaagc tcctgatcta tgatacaaat cgcttggcag atggggtccc atcacggttc	1680
	agtggctctg gatctggcac acagtatact ctaaccataa gtagcctgca acccgaagat	1740
	ttcgcaacct attattgtca acactataag aattatccgc tcacgttcgg tcaggggacc	1800
	aagctggaaa tcaaaaagatc tggtggcggg gggtcaggag gcggaggcag cggaggcgggt	1860
	ggctcgggag gcggaggctc gagatctgag gtgcagttgg tggagtctgg gggcggcttg	1920
25	gtgcagcctg gagggtccct gaggctctcc tgtgcagcct caggattcac tctcagtaat	1980
	tatggcatgc actggatcg gcaggctcca gggaaaggcgc tggagtgggt ctcgtctatt	2040
	agtcttaatg gtggtagcac ttactatcga gactccgtga agggccgatt cactatctcc	2100
	agggacaatg caaaaagcac cctctacctt caaatgaata gtctgagggc cgaggacacg	2160
	gccgtctatt actgtgcagc acaggacgct tatacggag gttactttga ttactgggc	2220
30	caaggaacgc tggtcacagt ctcgtctatg gatccgcaca ccacaaccaa gcccgtctg	2280
	cggaccccaa gcccgtgca ccctaccggc accagccagc ctcagagacc cgaggactgc	2340
	cggcctcggg gcagcgtgaa gggcacccggc ctggacttcg cctgcgacat ctactggca	2400
	cctctggccg gaatatgcgt ggcactgctg ctgagcctca tcatcaccct gatctgttat	2460
	caccgaagcc gcaagcgggt gtgtaaaagt ggaggcggaa gcttctggga ggagttttag	2520
35	agtttgcaga agcaggaggt gaagaacttg caccagcgtc tggaaaggcga gcggccagag	2580
	aacaagggca agaaccgcta caagaacatt ctcccctttg accacagccg agtgtacctg	2640
	cagggacggg acagtaacat ccccggtcc gactacatca atgccaacta catcaagaac	2700
	cagctgctag gccctgtatga gaacgctaag acctacatcg ccagccaggc ctgtctggag	2760
	gccacggtca atgacttctg gcagatggcg tggcaggaga acagccgtgt catcgtcatg	2820
40	accacccgag aggtggagaa aggccggAAC aaatgcgtcc catactggcc cgaggtggc	2880
	atgcagcgtg cttatgggcc ctactctgtg accaactgcg gggagcatga cacaaccgaa	2940
	tacaaactcc gtaccttaca ggtctccccg ctggacaatg gagacctgat tcgggagatc	3000
	tggcattacc agtacctgag ctggcccgac cacgggggtcc ccagtgagcc tgggggtgtc	3060
	ctcagcttcc tggaccagat caaccagcgg cagaaagtc tgccctcacgc agggcccatc	3120
45	atcgtgcact gcagcgcgg catcggccgc acaggcacca tcattgtcat cgacatgctc	3180
	atggagaaca tctccaccaa gggcctggac tgtgacattg acatccagaa gaccatccag	3240
	atgggtgcggg cgcagcgtc gggcatggtg cagacggagg cgcaagtacaa gttcatctac	3300
	gtggccatcg cccagttcat taaaaccact aagaagaagc tgtga	3345

<210> 39
 <211> 2757
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR
 (MP16091.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-LAIR1
 tm-endo)
 <400> 39

10	atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgccaga	60
	ccagacatcc agatgaccca gaccaccaggc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg	120
	accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag	180
	cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc	240
	agccggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag	300
15	caggaggaca tcgcccaccta cttctgccag cagggcaaca ccctgcccata caccttcgga	360
	ggcggcacca agctggagat cacaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccggctct	420
	ggcggaggcg gctctggcgg aggccggcgc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccaggc	480
	ctggctggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccc tgagcggcgt gagcctgccc	540
	gactacggcg tgagctggat caggcagccc ccacggaagg gcctggagtg gctggcgtg	600
20	atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc	660
	aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc	720
	gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg	780
	ggccaggggca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgcccgc gccgcgacca	840
	ccaacaccgg cgcccacccat cgcgtcgcag cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg	900
25	ccagcggcgg gggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatcttttg	960
	gtgctgggtgg tgggtgggtgg agtcctggct tgctatagct tgcttagtaac agtggccctt	1020
	attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag	1080
	cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt	1140
	ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct	1200
30	caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt	1260
	gggatgaaag gcgagcgcgg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggctctcagt	1320
	acagccacca aggacaccta cgacgcctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc	1380
	gagggcaggg gaagtcttct aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccg gcccatggcc	1440
	gtgcccactc aggtcctggg gttgttgcta ctgtggctta cagatgccag atgtgacatc	1500
35	cagatgacac agtctccatc ttccctgtct gcatctgtcg gagatcgcgt caccatcacc	1560
	tgtcgagcaa gtgaggacat ttattttat ttagtgtggt atcagcagaa accagggaaag	1620
	gcccctaagc tcctgatcta tgatacaaat cgcttggcag atggggtccc atcacggttc	1680
	agtggctctg gatctggcac acagtatact ctaaccataa gtagcctgca acccgaagat	1740
	ttcgcaacct attattgtca acactataag aattatccgc tcacgttcgg tcaggggacc	1800
40	aagctggaaa tcaaaaagatc tggtgtggcga gggtcaggag gcggaggcag cggaggcgg	1860
	ggctcggggag gcggaggcgc gagatctgag gtgcagttgg tggagtctgg gggcggcttg	1920
	gtgcagcctg gagggtccct gaggctctcc tgtgcagcct caggattcac tctcagtaat	1980
	tatggcatgc actggatcag gcaggctcca gggaaaggcgc tggagtgggt ctcgtctatt	2040
	agtcttaatg gtggtagcac ttactatcga gactccgtga agggccgatt cactatctcc	2100
45	agggacaatg caaaaagcac cctctacctt caaatgaata gtctgagggc cgaggacacg	2160
	gccgtctatt actgtgcagc acaggacgct tatacggggag gttactttga ttactggggc	2220
	caaggaacgc tggtcacagt ctcgtctatg gatccgcac ccacaaccaa gcccgtgctg	2280
	cggaccacca gcccgtgca ccctaccggc accagccgc ctcagagacc cgaggactgc	2340

cggcctcggg gcagcgtgaa gggcacccgc ctggacttcg cctgcgcacat tctcatcggg 2400
 gtctcagtgg tcttcctctt ctgtctcctc ctccctggtcc tcttctgcct ccatcgccag 2460
 aatcagataa agcaggggcc ccccagaagc aaggacgagg agcagaagcc acagcagagg 2520
 cctgacactgg ctgttgatgt tctagagagg acagcagaca aggccacagt caatggactt 2580
 5 cctgagaagg accgggagac cgacaccagc gccctggctg cagggagttc ccaggaggtg 2640
 acgtatgctc agctggacca ctgggcctc acacagagga cagccccggc tgtgtccccca 2700
 cagtccacaa agcccatggc cgagtccatc acgtatgcag ccgttgccag acactga 2757
 <210> 40
 <211> 4092
 10 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие CAR
 (MP16092.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-LAIR1
 15 tm-endo-2A-PTPN6_SH2-dCD148)
 <400> 40
 atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgccaga 60
 ccagacatcc agatgaccca gaccaccagc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg 120
 accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag 180
 20 cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc 240
 agccggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag 300
 caggaggaca tcgcccaccta cttctgccag cagggcaaca ccctgcccta cacttcggg 360
 ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccggct 420
 ggcggaggcg gctctggcgg aggccggcgc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccaggc 480
 25 ctggtggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccc tgagcggcgt gagcctgccc 540
 gactacggcg ttagctggat cagggcagccc ccacggaaagg gcctggagtg gctggcgtg 600
 atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc 660
 aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc 720
 gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg 780
 30 ggccagggca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgccagc gccgcgcacca 840
 ccaacacccgg cgcccacccat cgcgtcgca cccctgtccc tgcgcggcaga ggcgtgcccgg 900
 ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctttgg 960
 gtgctgggtgg tgggtgggtgg agtccctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccctt 1020
 attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcttaccag 1080
 35 cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1140
 ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1200
 caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1260
 gggatgaaag gcgagcgcgg gagggcaag gggcacatg gccttacca gggctcagt 1320
 acagccacca aggacaccta cgacgcctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc 1380
 40 gagggcaggg gaagtcttct aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccg gccccatggcc 1440
 gtgcccactc aggtccctggg gttgttgcta ctgtggctta cagatgccag atgtgacatc 1500
 cagatgacac agtctccatc ttccctgtct gcatctgtcg gagatgcgtt caccatcacc 1560
 tgtcgagcaa gtgaggacat ttattttat tttagtgtgtt atcagcagaa accagggaaag 1620
 gcccctaagc tcctgatcta tgatacaat cgcttggcag atggggccc atcacggttc 1680
 45 agtggctctg gatctggcac acagtatact ctaaccataa gttagcctgca acccgaagat 1740
 ttcgcaacct attattgtca acactataag aattatccgc tcacgttcgg tcaggggacc 1800
 aagctggaaa tcaaaaagatc tgggtggcgg aggtcaggag gcggaggcag cggaggcggt 1860
 ggctcgggag gcccggcgtc gagatctgag gtgcagttgg tggagtctgg gggcggcttg 1920

	gtgcagcctg gagggtccct gaggctctcc tgtgcagcct caggattcac tctcagtaat	1980
	tatggcatgc actggatca gcaaggctcca gggaaagggtc tggagtgggt ctgcgtctatt	2040
	agtcttaatg gtggtagcac ttactatcga gactccgtga agggccgatt cactatctcc	2100
5	agggacaatg caaaaagcac cctctacctt caaatgaata gtctgagggc cgaggacacg	2160
	gccgtctatt actgtgcagc acaggacgct tatacgggag gttactttga ttactggggc	2220
	caaggaacgc tggtcacagt ctcgtctatg gatcccggca ccacaaccaa gcccgtgctg	2280
	cggaccggaa gccctgtgca ccctaccggc accagccagc ctcagagacc cgaggactgc	2340
	cggcctcgaa gcagcgtgaa gggcaccggc ctggacttcg cctgcgacat tctcatcgaa	2400
	gtctcagtttgc tcttcctctt ctgtctcctc ctcctggtcc tcttctgcct ccatcgccag	2460
10	aatcagataa agcaggggcc ccccaagaagc aaggacgagg agcagaagcc acagcagagg	2520
	cctgacactgg ctgttgcgtgt tcttagagagg acagcagaca agggccacagt caatggactt	2580
	cctgagaagg accgggagac cgacaccgc gcccggctg cagggagttc ccaggaggtg	2640
	acgtatgctc agctggacca ctggccctc acacagagga cagccccggc tgggtccccc	2700
	cagtccacaa agcccatggc cgagtccatc acgtatgcag ccgttgccag acacagggca	2760
15	gaaggaagag gttagcctgct gacttgcggg gacgtggaag agaaccagg gccatggtat	2820
	catggccaca tgcgtggcg gcaggcagag acgctgctgc aggccaagg cgagccctgg	2880
	acgtttcttgc tgcgtgagag ctcagccag cctggagact tcgtgcttc tgcgtcagtt	2940
	gaccagccca aggctggccc aggctccccg ctcagggtca cccacatcaa ggtcatgtgc	3000
	gagggtggac gtcacacagt gggtggtttgc gagaccttcg acgcctcac ggacctggc	3060
20	gagcatttca agaagacggg gattgaggag gcctcaggcg ccttgcgtcta cctgcggcag	3120
	ccgtacagcg gtggcggtgg cagtttgcg gcctacttca agaagcagca agctgactcc	3180
	aactgtgggt tcgcagagga atacgaagat ctgaagcttgc ttggaaatttttgc tcaacctaaa	3240
	tatgcagcag aactggctga gaatagagga aagaatcgct ataataatgt tctgccttat	3300
	gatattttccc gtgtcaaact ttccggtccag acccattcaa cgatgacta catcaatgcc	3360
25	aactacatgc ctggctacca ctccaaagaaaa gattttatttgc ccacacaagg acctttaccg	3420
	aacacttttgc aagatttttgc gcgtatggtt tgggagaaaa atgtatatgc catcattatg	3480
	ttgactaaat gtgttgaaca gggaaagaacc aaatgtgagg agtattggcc ctccaaaggcag	3540
	gctcaggact atggagacat aactgtggca atgacatcag aaattgttgc tccggaaatgg	3600
	accatcagag atttcacagt gaaaaatatac cagacaagtg agagtcaccc tctgagacag	3660
30	ttccatttca ctcctggcc agaccacgggt gttcccgaca ccactgaccc gctcatcaac	3720
	ttccggtacc tcgttgcgtga ctacatgaag cagagtccctc ccgaatcgcc gattctgggt	3780
	cattgcagtg ctgggggtcg aaggacgggc actttcatttgc ccattgatcg tctcatctac	3840
	cagatagaga atgagaacac cgtggatgtg tatggatttgc tgcgtgaccc tcgaatgc	3900
	aggcctttaa tggtgcagac agaggaccag tatgttttgc tcaatcgtg tggtttggat	3960
35	attgtcagat cccagaaaga ctcaaaaagta gatcttatct accagaacac aactgcaatg	4020
	acaatctatg aaaaccttgc gcccgtgacc acatttggaa agaccaatgg ttacatcgcc	4080
	agcggttagct aa	4092
	<210> 41	
	<211> 1341	
40	<212> Белок	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv)	
	SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aGD2-HCH2CH3pvaa-dCD148	
45	<400> 41	
	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	
	1 5 10 15	
	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu	

RU 2717984 C2

	20	25	30
	Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln		
	35	40	45
	Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr		
5	50	55	60
	Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro		
	65	70	75
	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile		
	85	90	95
10	Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly		
	100	105	110
	Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr		
	115	120	125
	Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
15	130	135	140
	Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly		
	145	150	155
	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly		
	165	170	175
20	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg		
	180	185	190
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr		
	195	200	205
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser		
25	210	215	220
	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr		
	225	230	235
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala		
	245	250	255
30	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro		
	260	265	270
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala		
	275	280	285
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly		
35	290	295	300
	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp		
	305	310	315
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val		
	325	330	335
40	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	340	345	350
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn		
	355	360	365
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg		
45	370	375	380
	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro		
	385	390	395
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		400

RU 2717984 C2

	405	410	415
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
	420	425	430
	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
5	435	440	445
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly		
	450	455	460
	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu		
	465	470	475
	Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser		
10	485	490	495
	Thr Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro		
	500	505	510
	Ser Gln Thr Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ala		
15	515	520	525
	Ser Tyr Asn Ile His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu		
	530	535	540
	Trp Leu Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala		
	545	550	555
	Leu Met Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val		
20	565	570	575
	Phe Leu Lys Met Ser Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr		
	580	585	590
	Cys Ala Lys Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln		
25	595	600	605
	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
	610	615	620
	Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Asn Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser		
	625	630	635
	Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Arg Ala		
30	645	650	655
	Ser Ser Ser Val Ser Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser		
	660	665	670
	Gly Lys Ala Pro Lys Val Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser		
35	675	680	685
	Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr		
	690	695	700
	Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys		
	705	710	715
	Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val		
40	725	730	735
	Glu Ile Lys Arg Ser Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr		
	740	745	750
	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val		
45	755	760	765
	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr		
	770	775	780
	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		

RU 2717984 C2

	785	790	795	800
	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
	805	810	815	
5	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
	820	825	830	
	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
	835	840	845	
	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile			
	850	855	860	
10	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
	865	870	875	880
	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
	885	890	895	
	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn			
15	900	905	910	
	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser			
	915	920	925	
	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg			
	930	935	940	
20	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu			
	945	950	955	960
	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys			
	965	970	975	
	Asp Pro Lys Ala Val Phe Gly Cys Ile Phe Gly Ala Leu Val Ile Val			
25	980	985	990	
	Thr Val Gly Gly Phe Ile Phe Trp Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ala Lys			
	995	1000	1005	
	Asn Asn Glu Val Ser Phe Ser Gln Ile Lys Pro Lys Lys Ser Lys			
	1010	1015	1020	
30	Leu Ile Arg Val Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Phe Lys Lys Gln Gln			
	1025	1030	1035	
	Ala Asp Ser Asn Cys Gly Phe Ala Glu Glu Tyr Glu Asp Leu Lys			
	1040	1045	1050	
	Leu Val Gly Ile Ser Gln Pro Lys Tyr Ala Ala Glu Leu Ala Glu			
35	1055	1060	1065	
	Asn Arg Gly Lys Asn Arg Tyr Asn Asn Val Leu Pro Tyr Asp Ile			
	1070	1075	1080	
	Ser Arg Val Lys Leu Ser Val Gln Thr His Ser Thr Asp Asp Tyr			
	1085	1090	1095	
40	Ile Asn Ala Asn Tyr Met Pro Gly Tyr His Ser Lys Lys Asp Phe			
	1100	1105	1110	
	Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Pro Asn Thr Leu Lys Asp Phe Trp			
	1115	1120	1125	
	Arg Met Val Trp Glu Lys Asn Val Tyr Ala Ile Ile Met Leu Thr			
45	1130	1135	1140	
	Lys Cys Val Glu Gln Gly Arg Thr Lys Cys Glu Glu Tyr Trp Pro			
	1145	1150	1155	
	Ser Lys Gln Ala Gln Asp Tyr Gly Asp Ile Thr Val Ala Met Thr			

RU 2717984 C2

	1160	1165	1170
	Ser Glu Ile Val Leu Pro Glu Trp Thr Ile Arg Asp Phe Thr Val		
	1175	1180	1185
5	Lys Asn Ile Gln Thr Ser Glu Ser His Pro Leu Arg Gln Phe His		
	1190	1195	1200
	Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Asp Thr Thr Asp Leu		
	1205	1210	1215
	Leu Ile Asn Phe Arg Tyr Leu Val Arg Asp Tyr Met Lys Gln Ser		
	1220	1225	1230
10	Pro Pro Glu Ser Pro Ile Leu Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly		
	1235	1240	1245
	Arg Thr Gly Thr Phe Ile Ala Ile Asp Arg Leu Ile Tyr Gln Ile		
	1250	1255	1260
	Glu Asn Glu Asn Thr Val Asp Val Tyr Gly Ile Val Tyr Asp Leu		
15	1265	1270	1275
	Arg Met His Arg Pro Leu Met Val Gln Thr Glu Asp Gln Tyr Val		
	1280	1285	1290
	Phe Leu Asn Gln Cys Val Leu Asp Ile Val Arg Ser Gln Lys Asp		
	1295	1300	1305
20	Ser Lys Val Asp Leu Ile Tyr Gln Asn Thr Thr Ala Met Thr Ile		
	1310	1315	1320
	Tyr Glu Asn Leu Ala Pro Val Thr Thr Phe Gly Lys Thr Asn Gly		
	1325	1330	1335
	Tyr Ile Ala		
25	1340		
	<210> 42		
	<211> 4026		
	<212> ДНК		
	<213> Искусственная последовательность		
30	<220>		
	<223> Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv)		
	SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aGD2-HCH2CH3pvaa-dCD148		
	<400> 42		
	atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgccaga		60
35	ccagacatcc agatgaccca gaccaccaggc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg		120
	accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag		180
	cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc		240
	agccggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag		300
	caggaggaca tcgcccaccta cttctgcccag cagggcaaca ccctgcccta caccttcgga		360
40	ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccggtct		420
	ggcggaggcg gctctggcgg aggcggcagc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccgaggc		480
	ctggtggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccg tgagcggcgt gaggcctgccc		540
	gactacggcg tgagctggat caggcagccc ccacggaaagg gcctggagtg gctggcgtg		600
	atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc		660
45	aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc		720
	gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg		780
	ggccaggggca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgccagc gccgcgacca		840
	ccaacaccgg cgccccaccat cgcgtcgcag cccctgtccc tgcgccaga ggcgtccgg		900

	ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctttgg	960
	gtgctggtgg tgggtggtgg agtcctggct tgctatagct tgcttagtaac agtggccctt	1020
	attatttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcttaccag	1080
5	cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt	1140
	ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct	1200
	caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cgaggcccta cagttagatt	1260
	gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacatg gcctttacca gggtctcagt	1320
	acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc	1380
	gagggcaggg gaagtcttct aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccgg gcccatggag	1440
10	accgacaccc tgctgctgt ggtgctgctg ctgtgggtgc cagggcagcac cggccaggtg	1500
	cagctgcagg agtctggccc aggctggtg aagcccagcc agacccttag catcacctgc	1560
	accgtgagcg gcttcagctt ggccagctac aacatccact gggtgccgca gcccccaggc	1620
	aagggcctgg agtggctggg cgtatctgg gctggccgca gcaccaacta caacagcgcc	1680
	ctgatgagcc ggctgaccat cagcaaggac aacagcaaga accaggttgtt cctgaagatg	1740
15	agcagcctga cagccgcccga caccgcgtg tactactgcg ccaagcggag cgacgactac	1800
	agctggttcg cctactgggg ccagggcacc ctggtgaccg tgagctctgg cggaggccgc	1860
	tctggccggag gcccgtctgg cggaggccgc acgcgagaacc agatgaccca gagcccccagc	1920
	agcttgagcg ccagcgtggg cgaccgggtg accatgaccc gcagagccag cagcagcgtg	1980
	agcagcagct acctgcactg gtaccagcag aagagcggca aggccccaaa ggtgtggatc	2040
20	tacagcacca gcaacctggc cagcggcgtg cccagccgt tgagcggcag cggcagcggc	2100
	accgactaca ccctgaccat cagcagcctg cagcccgagg acttcgccc acctactgc	2160
	cagcagtaca gcggctaccc catcaccttc ggccaggggca ccaaggtgga gatcaagcgg	2220
	tcggatccc ccgagcccaa atctcctgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca	2280
	cctccctgg ccggcccgctc agtcttcctc ttccccccaa aacccaagga caccctcatg	2340
25	atcgcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agacccttag	2400
	gtcaagttca actggtagt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg	2460
	gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgt gtcagcgtcc tcaccgtct gcaccaggac	2520
	tggctgaatg gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagccctccc agcccccattc	2580
	gagaaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc	2640
30	ccatcccggg attagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc	2700
	tatcccagcg acatcgccgt ggagtggag agcaatgggc aaccggagaa caactacaag	2760
	accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gtcaccgtg	2820
	gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggccctg	2880
	cacaatcact atacccagaa atctctgagt ctgagccag gcaagaagga ccccaaggcg	2940
35	gtttttggct gtatctttgg tgccctgggtt attgtgactg tggaggcctt catcttctgg	3000
	agaaagaaga ggaaagatgc aaagaataat gaagtgtcct tttctcaaatt taaacctaaa	3060
	aaatctaagt taatcagagt ggagaatttt gaggcctact tcaagaagca gcaagctgac	3120
	tccaactgtg ggttcgcaga ggaatacgaa gatctgaagc ttgttggaaat tagtcaaccc	3180
	aaatatgcag cagaactggc tgagaataga ggaaagaatc gctataataa tggctgccc	3240
40	tatgatattt cccgtgtcaa actttcggtc cagacccatt caacggatga ctacatcaat	3300
	gccaactaca tgcctggcta ccactccaag aaagattta ttgccacaca aggacctta	3360
	ccgaacactt tggaaagattt ttggcgtatg gtttgggaga aaaatgtata tgccatcatt	3420
	atgttgacta aatgtgttga acagggaga accaaatgtg aggagtattg gccctccaag	3480
	caggctcagg actatggaga cataactgtg gcaatgacat cagaaattgt tcttccggaa	3540
45	tggaccatca gagatttcac agtggaaaat atccagacaa gtgagagtca ccctctgaga	3600
	cagttccatt tcacccctcg gccagaccac ggtgtcccg acaccactga cctgctcatc	3660
	aacttcccggt acctcggtcg tgactacatg aagcagagtc ctcccgaatc gccgattctg	3720
	gtgcattgca gtgtgggtt cggaaggacg ggcacttca ttgccattga tcgtctcatc	3780

RU 2717984 C2

taccagatag agaatgagaa caccgtggat gtgttatggga ttgtgttatga ctttcgaatg 3840
 cataggcctt taatggtgca gacagaggac cagtatgtt tcctcaatca gtgtgtttg 3900
 gatatttgtca gatcccagaa agactcaaaa gtagatctt tctaccagaa cacaactgca 3960
 atgacaatct atgaaaacct tgcgcccgtg accacattg gaaagaccaa tggttacatc 4020
 5 gcctaa 4026
 <210> 43
 <211> 1341
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 10 <220>
 <223> Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv)
 SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD5-HCH2CH3pvaa-dCD148
 <400> 43
 Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 15 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
 20 20 25 30
 Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 35 35 40 45
 20 Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
 50 50 55 60
 Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
 65 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
 25 85 90 95
 Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
 100 100 105 110
 Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 115 115 120 125
 30 Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 145 145 150 155 160
 Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly
 35 165 170 175
 Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg
 180 180 185 190
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr
 195 195 200 205
 40 Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser
 210 210 215 220
 Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr
 225 225 230 235 240
 Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala
 45 245 250 255
 Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro
 260 260 265 270
 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

RU 2717984 C2

	275	280	285
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly		
	290	295	300
	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp		
5	305	310	315
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val		
	325	330	335
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	340	345	350
10	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn		
	355	360	365
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg		
	370	375	380
	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro		
15	385	390	395
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		
	405	410	415
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
	420	425	430
20	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
	435	440	445
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly		
	450	455	460
	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu		
25	465	470	475
	Thr Asp Thr Leu Leu Trp Val Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser		
	485	490	495
	Thr Gly Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Lys Pro		
	500	505	510
30	Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser		
	515	520	525
	Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly		
	530	535	540
	Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Val Tyr Tyr Asn		
35	545	550	555
	Pro Ser Leu Lys Asn Gln Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ala Ser Arg Asp		
	565	570	575
	Gln Val Phe Leu Lys Ile Thr Asn Leu Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr		
	580	585	590
40	Tyr Tyr Cys Val Arg Arg Arg Ala Thr Gly Thr Gly Phe Asp Tyr Trp		
	595	600	605
	Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asn Ile Val Met Thr Gln Ser		
45	625	630	635
	His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Ala Cys		
	645	650	655
	Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys		

RU 2717984 C2

	660	665	670
	Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His		
	675	680	685
	Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
5	690	695	700
	Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe		
	705	710	715
	Cys His Gln Tyr Asn Ser Tyr Asn Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu		
	725	730	735
10	Glu Leu Lys Arg Ser Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr		
	740	745	750
	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val		
	755	760	765
	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr		
15	770	775	780
	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu		
	785	790	795
	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
	805	810	815
20	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
	820	825	830
	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
	835	840	845
	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile		
25	850	855	860
	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
	865	870	875
	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
	885	890	895
30	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
	900	905	910
	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
	915	920	925
	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
35	930	935	940
	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
	945	950	955
	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys		
	965	970	975
40	Asp Pro Lys Ala Val Phe Gly Cys Ile Phe Gly Ala Leu Val Ile Val		
	980	985	990
	Thr Val Gly Gly Phe Ile Phe Trp Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ala Lys		
	995	1000	1005
	Asn Asn Glu Val Ser Phe Ser Gln Ile Lys Pro Lys Lys Ser Lys		
45	1010	1015	1020
	Leu Ile Arg Val Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Phe Lys Lys Gln Gln		
	1025	1030	1035
	Ala Asp Ser Asn Cys Gly Phe Ala Glu Glu Tyr Glu Asp Leu Lys		

RU 2717984 C2

	1040	1045	1050
	Leu Val Gly Ile Ser Gln Pro Lys Tyr Ala Ala Glu	Leu Ala Glu	
	1055	1060	1065
5	Asn Arg Gly Lys Asn Arg Tyr Asn Asn Val Leu Pro	Tyr Asp Ile	
	1070	1075	1080
	Ser Arg Val Lys Leu Ser Val Gln Thr His Ser Thr	Asp Asp Tyr	
	1085	1090	1095
	Ile Asn Ala Asn Tyr Met Pro Gly Tyr His Ser Lys	Lys Asp Phe	
	1100	1105	1110
10	Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Pro Asn Thr Leu Lys	Asp Phe Trp	
	1115	1120	1125
	Arg Met Val Trp Glu Lys Asn Val Tyr Ala Ile Ile	Met Leu Thr	
	1130	1135	1140
	Lys Cys Val Glu Gln Gly Arg Thr Lys Cys Glu Glu	Tyr Trp Pro	
15	1145	1150	1155
	Ser Lys Gln Ala Gln Asp Tyr Gly Asp Ile Thr Val	Ala Met Thr	
	1160	1165	1170
	Ser Glu Ile Val Leu Pro Glu Trp Thr Ile Arg Asp	Phe Thr Val	
	1175	1180	1185
20	Lys Asn Ile Gln Thr Ser Glu Ser His Pro Leu Arg	Gln Phe His	
	1190	1195	1200
	Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Asp Thr	Thr Asp Leu	
	1205	1210	1215
	Leu Ile Asn Phe Arg Tyr Leu Val Arg Asp Tyr Met	Lys Gln Ser	
25	1220	1225	1230
	Pro Pro Glu Ser Pro Ile Leu Val His Cys Ser Ala	Gly Val Gly	
	1235	1240	1245
	Arg Thr Gly Thr Phe Ile Ala Ile Asp Arg Leu Ile	Tyr Gln Ile	
	1250	1255	1260
30	Glu Asn Glu Asn Thr Val Asp Val Tyr Gly Ile Val	Tyr Asp Leu	
	1265	1270	1275
	Arg Met His Arg Pro Leu Met Val Gln Thr Glu Asp	Gln Tyr Val	
	1280	1285	1290
	Phe Leu Asn Gln Cys Val Leu Asp Ile Val Arg Ser	Gln Lys Asp	
35	1295	1300	1305
	Ser Lys Val Asp Leu Ile Tyr Gln Asn Thr Thr Ala	Met Thr Ile	
	1310	1315	1320
	Tyr Glu Asn Leu Ala Pro Val Thr Thr Phe Gly Lys	Thr Asn Gly	
	1325	1330	1335
40	Tyr Ile Ala		
	1340		
	<210> 44		
	<211> 4026		
	<212> ДНК		
45	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv)		
	SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD5-HCH2CH3pvaa-dCD148		

<400> 44

	atgagcctgc	ccgtgaccgc	cctgctgctg	cccctggccc	tgctgctgca	cgccgccaga	60
	ccagacatcc	agatgaccca	gaccaccaggc	agcctgagcg	ccagcctggg	cgaccgggtg	120
	accatcagct	gcagagccag	ccaggacatc	agcaagtacc	tgaactggta	ccagcagaag	180
5	cccgacggca	ccgtgaagct	gctgatctac	cacaccagcc	ggctgcacag	cgccgtgccc	240
	agccggttca	gcggcagcgg	cagcggcacc	gactacagcc	tgaccatcg	caacctggag	300
	caggaggaca	tcgcccaccta	cttctgcccag	cagggcaaca	ccctgcccata	caccttcgga	360
	ggcggcacca	agctggagat	acccaaggcc	ggaggcggag	gctctggcgg	aggcggctct	420
	ggcggaggcg	gctctggcgg	aggcggcagc	gaggtgaagc	tgcaggagtc	tggcccaggc	480
10	ctggtgtggccc	caagccagag	cctgagcgtg	acctgcaccg	tgagcggcgt	gagcctgccc	540
	gactacggcg	tgagctggat	caggcagccc	ccacggaagg	gcctggagtg	gctgggcgtg	600
	atctggggca	gcgagaccac	ctactacaac	agcgcctga	agagccggct	gaccatcatc	660
	aaggacaaca	gcaagagcca	ggtgttcctg	aagatgaaca	gcctgcagac	cgacgacacc	720
15	gccatctact	actgcgcca	gcactactac	tatggcggca	gctacgctat	ggactactgg	780
	ggccaggggca	ccagcgtgac	cgtgagctca	gatcccacca	cgacgccagc	gccgcgacca	840
	ccaacacccg	cgcccacccat	cgcgtcgac	ccccctgtccc	tgcgcccaga	ggcgtgccgg	900
	ccagcggcgg	ggggcgcagt	gcacacgagg	gggctggact	tcgcctgtga	tatcttttgg	960
	gtgctgggtgg	tggttgggtgg	agtcctggct	tgctatact	tgcttagtaac	agtggccctt	1020
	attattttct	gggtgaggag	agtgaagttc	agcaggagcg	cagacgcccc	cgcgtaccag	1080
20	cagggccaga	accagctcta	taacgagctc	aatctaggac	gaagagagga	gtacgatgtt	1140
	ttggacaaga	gacgtggccg	ggaccctgag	atggggggaa	agccgagaag	gaagaacct	1200
	caggaaggcc	tgtacaatga	actgcagaaa	gataagatgg	cggaggccta	cagtgagatt	1260
	gggatgaaag	gcgagcgcgg	gaggggcaag	gggcacgatg	gcctttacca	gggtctcagt	1320
	acagccacca	aggacaccta	cgacgcctt	cacatgcagg	ccctgcctcc	tcgcagagcc	1380
25	gagggcaggg	gaagtcttct	aacatgcggg	gacgtggagg	aaaatcccgg	gcccatggag	1440
	accgacaccc	tgctgctgt	ggtgctgctg	ctgtgggtgc	ccggcagcac	cggccaggtg	1500
	accctgaagg	agagcggtcc	cggcatcctg	aagcccagcc	agaccctgag	cctgacactgc	1560
	agcttcagcg	gcttcagct	gagcaccagc	ggcatggcg	tggctggat	tcggcagccc	1620
	agcggcaagg	gcctggagtg	gctggccac	atctggtggg	acgacgacgt	gtactacaac	1680
30	cccagcctga	agaaccagct	gaccatcagc	aaggacgcca	gccgggacca	ggtgttccctg	1740
	aagatcacca	acctggacac	cgccgacacc	gccacctact	actgcgtgcg	gcgccggggcc	1800
	accggcaccg	gcttcgacta	ctggggccag	ggcaccaccc	tgaccgtgag	cagcggtggc	1860
	ggtggcagcg	gccccggcgg	aagcggaggt	ggtggcagca	acatcgtgat	gaccagagc	1920
	cacaagttca	tgagcaccag	cgtgggcgac	cgggtgagca	tcgcctgcaa	ggccagccag	1980
35	gacgtgggc	ccggccgtggc	ctggtaccag	cagaacgcctg	gccagagccc	caagctgctg	2040
	atctactgga	ccagcaccgg	gcacacccggc	gtgcccgacc	ggttcaccgg	cagcggcagc	2100
	ggcaccggact	tcaccctgac	catcaccaac	gtcagagcg	aggacactggc	cgactactc	2160
	tgccaccagt	acaacagcta	caacaccc	ggcagcggca	cccgctgg	gctgaagcgg	2220
	tcggatccc	ccgagccaa	atctcctgac	aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	2280
40	cctccctgg	ccggcccg	agtctcc	ttccccccaa	aacccaagga	caccctcatg	2340
	atcgcccg	cccctgagg	cacatgcgt	gtggtgac	tgagccacga	agaccctgag	2400
	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcgt	gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	2460
	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgt	gtcagcgtcc	tcaccgtcc	gcaccaggac	2520
	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgc	gtctccaaca	aagccctccc	agccccatc	2580
45	gagaaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	ccccgagaac	cacaggtgt	caccctgccc	2640
	ccatccccc	atgagctgac	caagaaccag	gtcagcctga	cctgcctgg	caaaggctt	2700
	tatccc	acatcgc	ggagtggag	agcaatggc	aaccggagaa	caactacaag	2760
	accacgc	ccgtgctgg	ctccgacggc	tccttcttcc	tctacagca	gctcaccgt	2820

	gacaagagca ggtggcagca ggggaacgta ttctcatgct ccgtgatgca tgaggccctg	2880
	cacaatcaat ataccagaa atctctgagt ctgagccag gcaagaagga ccccaaggcg	2940
	gttttggct gtatcttg tgccctggtt attgtgactg tggaggcctt catcttctgg	3000
5	agaaagaaga gaaaaagatgc aaagaataat gaagtgtcct tttctcaaataa taaacctaaa	3060
	aatctaagt taatcagagt ggagaatttt gaggcctact tcaagaagca gcaagctgac	3120
	tccaactgtg ggttcgcaga ggaatacgaa gatctgaagc ttgttgaat tagtcaacct	3180
	aaatatgcag cagaactggc tgagaataga gaaaagaatc gctataataa tggtctgccc	3240
	tatgatattt cccgtgtcaa actttcggtc cagacccatt caacggatga ctacatcaat	3300
	gccaactaca tgcctggcta ccactccaag aaagattta ttgccacaca aggacctta	3360
10	ccgaacactt taaaaagattt ttggcgtatg gtttggaga aaaatgtata tgccatcatt	3420
	atgttacta aatgtgttga acaggaaaga accaaatgtg aggagtattt gcccctccaag	3480
	caggctcagg actatggaga cataactgtg gcaatgacat cagaaattgt tcttccggaa	3540
	tggaccatca gagatttcac agtggaaaat atccagacaa gtgagagtca ccctctgaga	3600
	cagttccatt tcacccctg gccagaccac ggtgttccc acaccactga cctgctcatc	3660
15	aactccggc acctcggtc tgactacatg aagcagagtc ctcccgaatc gccgattctg	3720
	gtgcattgca gtgctgggt cggaaggacg ggcactttca ttgccattga tcgtctcatc	3780
	taccagatag agaatgagaa caccgtggat gtgtatggaa ttgtgtatga ctttcgaatg	3840
	cataggcatt taatggtgc gacagaggac cagttatgtt tcctcaatca gtgtgtttt	3900
	gatattgtca gatcccagaa agactcaaaa gtagatctt tctaccagaa cacaactgca	3960
20	atgacaatct ataaaaaccc tgcgccccgtg accacattt gaaagaccaa tggttacatc	4020
	gcctaa	4026
	<210> 45	
	<211> 1342	
	<212> Белок	
25	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv)	
	SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aEGFRvIII-HCH2CH3pvaa-dCD148	
	<400> 45	
30	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu	
	1 5 10 15	
	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu	
	20 25 30	
	Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln	
35	35 40 45	
	Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr	
	50 55 60	
	Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro	
	65 70 75 80	
40	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile	
	85 90 95	
	Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly	
	100 105 110	
	Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr	
45	115 120 125	
	Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	
	130 135 140	
	Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly	

RU 2717984 C2

	145	150	155	160
	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly			
	165	170	175	
	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg			
5	180	185	190	
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr			
	195	200	205	
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser			
	210	215	220	
10	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr			
	225	230	235	240
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala			
	245	250	255	
	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro			
15	260	265	270	
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala			
	275	280	285	
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly			
	290	295	300	
20	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp			
	305	310	315	320
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val			
	325	330	335	
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg			
25	340	345	350	
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn			
	355	360	365	
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg			
	370	375	380	
30	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro			
	385	390	395	400
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala			
	405	410	415	
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His			
35	420	425	430	
	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp			
	435	440	445	
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly			
	450	455	460	
40	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu			
	465	470	475	480
	Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro Gly Ser			
	485	490	495	
	Thr Gly Gln Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro			
45	500	505	510	
	Gly Ala Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Phe Thr Phe Arg			
	515	520	525	
	Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Ser Asp Lys Arg Leu Glu			

RU 2717984 C2

	530	535	540
	Trp Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly Gly Tyr Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp		
545	550	555	560
	Asn Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr		
5	565	570	575
	Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr		
	580	585	590
	Tyr Cys Thr Arg Gly Tyr Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp		
	595	600	605
10	Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser		
625	630	635	640
	Pro Ala Ser Leu Ser Val Ala Thr Gly Glu Lys Val Thr Ile Arg Cys		
15	645	650	655
	Met Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys		
	660	665	670
	Pro Gly Glu Pro Pro Lys Phe Leu Ile Ser Glu Gly Asn Thr Leu Arg		
	675	680	685
20	Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Ser Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe		
	690	695	700
	Val Phe Thr Ile Glu Asn Thr Leu Ser Glu Asp Val Gly Asp Tyr Tyr		
705	710	715	720
	Cys Leu Gln Ser Phe Asn Val Pro Leu Thr Phe Gly Asp Gly Thr Lys		
25	725	730	735
	Leu Glu Ile Lys Arg Ser Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys		
	740	745	750
	Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser		
	755	760	765
30	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg		
	770	775	780
	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
785	790	795	800
	Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
35	805	810	815
	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
	820	825	830
	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
	835	840	845
40	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	850	855	860
	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
865	870	875	880
	Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
45	885	890	895
	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
	900	905	910
	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		

RU 2717984 C2

	915	920	925
	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	930	935	940
	Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
5	945	950	955
	Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		960
	965	970	975
	Lys Asp Pro Lys Ala Val Phe Gly Cys Ile Phe Gly Ala Leu Val Ile		
	980	985	990
10	Val Thr Val Gly Gly Phe Ile Phe Trp Arg Lys Lys Arg Lys Asp Ala		
	995	1000	1005
	Lys Asn Asn Glu Val Ser Phe Ser Gln Ile Lys Pro Lys Lys Ser		
	1010	1015	1020
	Lys Leu Ile Arg Val Glu Asn Phe Glu Ala Tyr Phe Lys Lys Gln		
15	1025	1030	1035
	Gln Ala Asp Ser Asn Cys Gly Phe Ala Glu Glu Tyr Glu Asp Leu		
	1040	1045	1050
	Lys Leu Val Gly Ile Ser Gln Pro Lys Tyr Ala Ala Glu Leu Ala		
	1055	1060	1065
20	Glu Asn Arg Gly Lys Asn Arg Tyr Asn Asn Val Leu Pro Tyr Asp		
	1070	1075	1080
	Ile Ser Arg Val Lys Leu Ser Val Gln Thr His Ser Thr Asp Asp		
	1085	1090	1095
	Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr Met Pro Gly Tyr His Ser Lys Lys Asp		
25	1100	1105	1110
	Phe Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Pro Asn Thr Leu Lys Asp Phe		
	1115	1120	1125
	Trp Arg Met Val Trp Glu Lys Asn Val Tyr Ala Ile Ile Met Leu		
	1130	1135	1140
30	Thr Lys Cys Val Glu Gln Gly Arg Thr Lys Cys Glu Glu Tyr Trp		
	1145	1150	1155
	Pro Ser Lys Gln Ala Gln Asp Tyr Gly Asp Ile Thr Val Ala Met		
	1160	1165	1170
	Thr Ser Glu Ile Val Leu Pro Glu Trp Thr Ile Arg Asp Phe Thr		
35	1175	1180	1185
	Val Lys Asn Ile Gln Thr Ser Glu Ser His Pro Leu Arg Gln Phe		
	1190	1195	1200
	His Phe Thr Ser Trp Pro Asp His Gly Val Pro Asp Thr Thr Asp		
	1205	1210	1215
40	Leu Leu Ile Asn Phe Arg Tyr Leu Val Arg Asp Tyr Met Lys Gln		
	1220	1225	1230
	Ser Pro Pro Glu Ser Pro Ile Leu Val His Cys Ser Ala Gly Val		
	1235	1240	1245
	Gly Arg Thr Gly Thr Phe Ile Ala Ile Asp Arg Leu Ile Tyr Gln		
45	1250	1255	1260
	Ile Glu Asn Glu Asn Thr Val Asp Val Tyr Gly Ile Val Tyr Asp		
	1265	1270	1275
	Leu Arg Met His Arg Pro Leu Met Val Gln Thr Glu Asp Gln Tyr		

	1280	1285	1290
	Val Phe Leu Asn Gln Cys Val	Leu Asp Ile Val Arg Ser Gln Lys	
	1295	1300	1305
	Asp Ser Lys Val Asp Leu Ile	Tyr Gln Asn Thr Thr Ala Met Thr	
5	1310	1315	1320
	Ile Tyr Glu Asn Leu Ala Pro	Val Thr Thr Phe Gly Lys Thr Asn	
	1325	1330	1335
	Gly Tyr Ile Ala		
	1340		
10	<210> 46		
	<211> 4029		
	<212> ДНК		
	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
15	<223> Одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv)		
	SFG.aCD19-CD8STK-CD28tmZ-2A-aEGFRvIII-HCH2CH3pvaa-dCD148		
	<400> 46		
	atgagcctgc ccgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgccaga	60	
	ccagacatcc agatgaccca gaccaccaggc agcctgagcg ccagcctggg cgaccgggtg	120	
20	accatcagct gcagagccag ccaggacatc agcaagtacc tgaactggta ccagcagaag	180	
	cccgacggca ccgtgaagct gctgatctac cacaccagcc ggctgcacag cggcgtgccc	240	
	agccggttca gcggcagcgg cagcggcacc gactacagcc tgaccatcag caacctggag	300	
	caggaggaca tcgcccccta cttctgcccag cagggcaaca ccctgcccata caccttcgga	360	
	ggcggcacca agctggagat caccaaggcc ggaggcggag gctctggcgg aggccgctct	420	
25	ggcggaggcg gctctggcgg aggcggcagc gaggtgaagc tgcaggagtc tggcccgaggc	480	
	ctggcggccc caagccagag cctgagcgtg acctgcaccg tgagcggcgt gagcctgccc	540	
	gactacggcg tgagctggat caggcagccc ccacggaagg gcctggagtg gctggcgtg	600	
	atctggggca gcgagaccac ctactacaac agcgcctga agagccggct gaccatcatc	660	
	aaggacaaca gcaagagcca ggtgttcctg aagatgaaca gcctgcagac cgacgacacc	720	
30	gccatctact actgcgccaa gcactactac tatggcggca gctacgctat ggactactgg	780	
	ggccaggggca ccagcgtgac cgtgagctca gatcccacca cgacgccagc gccgcgacca	840	
	ccaaacacgg cgccccaccat cgcgtcgca cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgcccgg	900	
	ccagcggcgg gggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctttgg	960	
	gtgctggtgg tggttgtgg agtcctggct tgctatagt tgcttagtaac agtggccttt	1020	
35	attattttct gggtgaggag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcttaccag	1080	
	cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt	1140	
	ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct	1200	
	caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt	1260	
	gggatgaaag gcgagcgcgg gagggcaag gggcacgatg gccttacca gggctcgt	1320	
40	acagccacca aggacaccta cgacgcctt cacatgcagg ccctgcctcc tcgcagagcc	1380	
	gagggcaggg gaagtctt aacatgcggg gacgtggagg aaaatcccg gcccattggag	1440	
	accgacaccc tgctgctgt ggtgctgctg ctgtgggtgc ccggcagcac cggccaggtg	1500	
	aagctgcagc agagcggcgg aggcctggtg aagccggcg ccagcctgaa gctgagctgc	1560	
	gtgaccagcg gttcacctt ccggaagttc ggcattagct gggtgcggca gaccagcgac	1620	
45	aagcggctgg agtgggtggc cagcatcagc accggcggct acaacaccta ctacagcgac	1680	
	aacgtgaagg gccgggtcac catcagccgg gagaacgcca agaacaccct gtacctgcag	1740	
	atgagcagcc tgaagagcga ggacaccgca ctgtactact gcacccgggg ctacagcagc	1800	
	accagctacg ctatggacta ctggggccag ggcaccaccc tgacagttag cagcggcgga	1860	

	ggaggcagtg gtgggggtgg atctggcgga ggtggcagcg acatcgagct gacccagagc cccgccagcc tgagcgtggc caccggcgag aaggtgacca tccggtgcat gaccagcacc gacatcgacg acgacatgaa ctggtaccag cagaagcccc gcgagcccc aaagttcctg atcagcgagg gcaacaccct gcggcccgcc gtgcccagcc ggttcagcag cagcggcacc 5 ggcaccgact tcgtgttcac catcgagaac accctgagcg aggacgtggg cgactactac tgcctgcaga gcttcaacgt gcccctgacc ttccggcagcg gcaccaagct ggagatcaag cggtcggatc ccgcccggcc caaatctcct gacaaaactc acacatgccc accgtgccc gcacccccc tggccggccc gtcaagtcttc ctcttcccc caaaaaccaa ggacaccctc atgatcgccc ggaccctgaa ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct 10 gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc 15 ttctatccca gcgacatcg cgtggagtgg gagagcaatg ggcaaccggaa gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtat gcatgaggcc ctgcacaatc actataccca gaaatctctg agtctgagcc caggcaagaa ggaccccaag gcggttttg gctgtatctt tggtgccctg gttattgtga ctgtgggagg cttcatttc 20 tggagaaaaga agagggaaaga tgcaaaagaat aatgaagtgt cctttctca aattaaacac aaaaaaatcta agttaatctg agtggagaat tttgaggcct acttcaagaa gcagcaagct gactccaact gtggggttcgc agaggaatac gaagatctga agttgttgg aattagtcaa cctaaatatg cagcagaact ggctgagaat agaggaaaga atcgctataa taatgttctg ccctatgata tttccctgtt caaactttcg gtccagaccc attcaacggaa tgactacatc 25 aatgccaact acatgcctgg ctaccactcc aagaaagatt ttattgccac acaaggac ttaccgaaca ctttggaaaga tttttggcgt atggtttggg agaaaaatgt atatgccatc attatgttga ctaaatgtgt tgaacaggga agaaccaaatt gtgaggagta ttggccctcc aagcaggctc aggactatgg agacataact gtggcaatga catcagaaat ttttcttccg gaatggacca tcagagattt cacagtgaaa aatatccaga caagtgagag tcaccctctg 30 agacagtcc atttcacccctc ctggccagac cacgggttcc ccgcacaccac tgacctgctc atcaacttcc ggtacctcg tcaactgactac atgaagcaga gtcctcccgatc atcgccgatt ctgggtgcatt gcagtgcgtt ggtcggaagg acgggcactt tcattgccat tgatcgctc atctaccaga tagagaatgaa gaacaccgtt gatgtgtatg ggattgtgtt tgaccttgc atgcataaggc cttaatggt gcagacagag gaccagtatg ttttctcaa tcagtgtgtt 35 ttggatattt tcagatccca gaaagactca aaagtagatc ttatctacca gaacacaact gcaatgacaa tctatgaaaaa ctttgcggcc gtgaccacat ttggaaagac caatggttac atcgccctaa <210> 47 <211> 6 40 <212> Белок <213> Искусственная последовательность <220> <223> Иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM) <220> 45 <221> смешанные свойства <222> (1)..(1) <223> Хаа может представлять собой Ser, Ile, Val или Leu <220>
--	---

<221> смешанные свойства
 <222> (2)..(2)
 <223> Хаа может представлять собой любую встречающуюся в природе аминокислоту
 <220>
 5 <221> смешанные свойства
 <222> (4)..(5)
 <223> Хаа может представлять собой любую встречающуюся в природе аминокислоту
 <220>
 <221> смешанные свойства
 10 <222> (6)..(6)
 <223> Хаа может представлять собой Ile, Val или Leu
 <400> 47
 Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa
 1 5
 15 <210> 48
 <211> 1114
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 20 <223> Аминокислотная последовательность логического элемента И НЕ
 (16076.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-tm-dPTP
 N6)
 <400> 48
 Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 25 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
 35 40 45
 30 Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
 50 55 60
 Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
 85 90 95
 35 Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
 100 105 110
 Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
 115 120 125
 40 Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
 145 150 155 160
 Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly
 165 170 175
 45 Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg
 180 185 190
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr

RU 2717984 C2

	195	200	205
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser		
	210	215	220
	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr		
5	225	230	235
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala		
	245	250	255
	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro		
	260	265	270
10	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala		
	275	280	285
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly		
	290	295	300
	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp		
15	305	310	315
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val		
	325	330	335
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg		
	340	345	350
20	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn		
	355	360	365
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg		
	370	375	380
	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro		
25	385	390	395
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala		
	405	410	415
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His		
	420	425	430
30	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp		
	435	440	445
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly		
	450	455	460
	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala		
35	465	470	475
	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala		
	485	490	495
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser		
	500	505	510
40	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr		
	515	520	525
	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu		
	530	535	540
	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe		
45	545	550	555
	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
	565	570	575
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr		

RU 2717984 C2

	580	585	590
5	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly 595	600	605
	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu 625	630	635
	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe 645	650	655
10	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys 660	665	670
	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr 675	680	685
	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala 690	695	700
15	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr 705	710	715
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe 725	730	735
20	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro 740	745	750
	Ala Thr Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro 755	760	765
	Thr Gly Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly 770	775	780
25	Ser Val Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Trp Ala 785	790	795
	Pro Leu Ala Gly Ile Cys Val Ala Leu Leu Leu Ser Leu Ile Ile Thr 805	810	815
30	Leu Ile Cys Tyr His Arg Ser Arg Lys Arg Val Cys Lys Ser Gly Gly 820	825	830
	Gly Ser Phe Trp Glu Glu Phe Glu Ser Leu Gln Lys Gln Glu Val Lys 835	840	845
	Asn Leu His Gln Arg Leu Glu Gly Gln Arg Pro Glu Asn Lys Gly Lys 850	855	860
35	Asn Arg Tyr Lys Asn Ile Leu Pro Phe Asp His Ser Arg Val Ile Leu 865	870	875
	Gln Gly Arg Asp Ser Asn Ile Pro Gly Ser Asp Tyr Ile Asn Ala Asn 885	890	895
40	Tyr Ile Lys Asn Gln Leu Leu Gly Pro Asp Glu Asn Ala Lys Thr Tyr 900	905	910
	Ile Ala Ser Gln Gly Cys Leu Glu Ala Thr Val Asn Asp Phe Trp Gln 915	920	925
	Met Ala Trp Gln Glu Asn Ser Arg Val Ile Val Met Thr Thr Arg Glu 930	935	940
45	Val Glu Lys Gly Arg Asn Lys Cys Val Pro Tyr Trp Pro Glu Val Gly 945	950	955
	Met Gln Arg Ala Tyr Gly Pro Tyr Ser Val Thr Asn Cys Gly Glu His		

	965	970	975
	Asp Thr Thr Glu Tyr Lys Leu Arg Thr Leu Gln Val Ser Pro Leu Asp		
	980	985	990
	Asn Gly Asp Leu Ile Arg Glu Ile Trp His Tyr Gln Tyr Leu Ser Trp		
5	995	1000	1005
	Pro Asp His Gly Val Pro Ser Glu Pro Gly Gly Val Leu Ser Phe		
	1010	1015	1020
	Leu Asp Gln Ile Asn Gln Arg Gln Glu Ser Leu Pro His Ala Gly		
	1025	1030	1035
10	Pro Ile Ile Val His Cys Ser Ala Gly Ile Gly Arg Thr Gly Thr		
	1040	1045	1050
	Ile Ile Val Ile Asp Met Leu Met Glu Asn Ile Ser Thr Lys Gly		
	1055	1060	1065
	Leu Asp Cys Asp Ile Asp Ile Gln Lys Thr Ile Gln Met Val Arg		
15	1070	1075	1080
	Ala Gln Arg Ser Gly Met Val Gln Thr Glu Ala Gln Tyr Lys Phe		
	1085	1090	1095
	Ile Tyr Val Ala Ile Ala Gln Phe Ile Glu Thr Thr Lys Lys Lys		
	1100	1105	1110
20	Leu		
	<210> 49		
	<211> 918		
	<212> Белок		
	<213> Искусственная последовательность		
25	<220>		
	<223> Аминокислотная последовательность логического элемента И НЕ (MP16091.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-LAIR1 tm-endo)		
	<400> 49		
30	Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu		
	1	5	10
			15
	His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu		
	20	25	30
	Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln		
35	35	40	45
	Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr		
	50	55	60
	Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro		
	65	70	75
			80
40	Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile		
	85	90	95
	Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly		
	100	105	110
	Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr		
45	115	120	125
	Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly		
	130	135	140
	Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly		

RU 2717984 C2

	145	150	155	160
	Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly			
	165	170	175	
5	Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg			
	180	185	190	
	Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr			
	195	200	205	
	Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser			
	210	215	220	
10	Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr			
	225	230	235	240
	Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Ala			
	245	250	255	
	Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro			
15	260	265	270	
	Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala			
	275	280	285	
	Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly			
	290	295	300	
20	Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp			
	305	310	315	320
	Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val			
	325	330	335	
	Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg			
25	340	345	350	
	Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn			
	355	360	365	
	Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg			
	370	375	380	
30	Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro			
	385	390	395	400
	Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala			
	405	410	415	
	Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His			
35	420	425	430	
	Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp			
	435	440	445	
	Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly			
	450	455	460	
40	Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala			
	465	470	475	480
	Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala			
	485	490	495	
	Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser			
45	500	505	510	
	Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr			
	515	520	525	
	Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu			

	530	535	540
	Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe		
5	545	550	555
	Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
	565	570	575
	Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr		
	580	585	590
	Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly		
	595	600	605
10	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly		
	610	615	620
	Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu		
	625	630	635
	Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe		
15	645	650	655
	Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys		
	660	665	670
	Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr		
	675	680	685
20	Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala		
	690	695	700
	Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr		
	705	710	715
	Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe		
25	725	730	735
	Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro		
	740	745	750
	Ala Thr Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro		
	755	760	765
30	Thr Gly Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly		
	770	775	780
	Ser Val Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Leu Ile Gly		
	785	790	795
	Val Ser Val Val Phe Leu Phe Cys Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys		
35	805	810	815
	Leu His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp		
	820	825	830
	Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu		
	835	840	845
40	Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp		
	850	855	860
	Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val		
	865	870	875
	Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg		
45	885	890	895
	Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr		
	900	905	910
	Ala Ala Val Ala Arg His		

915

<210> 50
<211> 1362
<212> Белок
5 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Аминокислотная последовательность логического элемента И НЕ
(MP16092.SFG.aCD19fmc63-CD8STK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-muCD8STK-LAIR1
tm-endo-2A-PTPN6_SH2-dCD148)

10 <400> 50
Met Ser Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
20 25 30
15 Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
35 40 45
Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr
50 55 60
Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro
20 65 70 75 80
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile
85 90 95
Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly
100 105 110
25 Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr
115 120 125
Lys Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
30 145 150 155 160
Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly
165 170 175
Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg
180 185 190
35 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr
195 200 205
Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser
210 215 220
Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr
40 225 230 235 240
Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala
245 250 255
Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Pro
260 265 270
45 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
275 280 285
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
290 295 300

RU 2717984 C2

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Phe Trp
 305 310 315 320
 Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
 325 330 335
 5 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Arg Val Lys Phe Ser Arg
 340 345 350
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 355 360 365
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 10 370 375 380
 Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
 385 390 395 400
 Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
 405 410 415
 15 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 420 425 430
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 435 440 445
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Glu Gly Arg Gly
 20 450 455 460
 Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ala
 465 470 475 480
 Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr Asp Ala
 485 490 495
 25 Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
 500 505 510
 Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr
 515 520 525
 Phe Asn Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 30 530 535 540
 Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe
 545 550 555 560
 Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 565 570 575
 35 Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Asn Tyr
 580 585 590
 Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Gly
 595 600 605
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 40 610 615 620
 Gly Gly Ser Arg Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu
 625 630 635 640
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
 645 650 655
 45 Thr Leu Ser Asn Tyr Gly Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 660 665 670
 Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Leu Asn Gly Gly Ser Thr Tyr
 675 680 685

RU 2717984 C2

Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 690 695 700
 Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
 705 710 715 720
 5 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gln Asp Ala Tyr Thr Gly Gly Tyr Phe
 725 730 735
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Met Asp Pro
 740 745 750
 Thr Thr Thr Lys Pro Val Leu Arg Thr Pro Ser Pro Val His Pro Thr
 10 755 760 765
 Gly Thr Ser Gln Pro Gln Arg Pro Glu Asp Cys Arg Pro Arg Gly Ser
 770 775 780
 Val Lys Gly Thr Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Leu Ile Gly Val
 785 790 795 800
 15 Ser Val Val Phe Leu Phe Cys Leu Leu Leu Val Leu Phe Cys Leu
 805 810 815
 His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro Arg Ser Lys Asp Glu
 820 825 830
 Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala Val Asp Val Leu Glu
 20 835 840 845
 Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu Pro Glu Lys Asp Arg
 850 855 860
 Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser Ser Gln Glu Val Thr
 865 870 875 880
 25 Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln Arg Thr Ala Arg Ala
 885 890 895
 Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu Ser Ile Thr Tyr Ala
 900 905 910
 Ala Val Ala Arg His Arg Ala Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys
 30 915 920 925
 Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Trp Tyr His Gly His Met Ser
 930 935 940
 Gly Gly Gln Ala Glu Thr Leu Leu Gln Ala Lys Gly Glu Pro Trp Thr
 945 950 955 960
 35 Phe Leu Val Arg Glu Ser Leu Ser Gln Pro Gly Asp Phe Val Leu Ser
 965 970 975
 Val Leu Ser Asp Gln Pro Lys Ala Gly Pro Gly Ser Pro Leu Arg Val
 980 985 990
 Thr His Ile Lys Val Met Cys Glu Gly Gly Arg Tyr Thr Val Gly Gly
 40 995 1000 1005
 Leu Glu Thr Phe Asp Ser Leu Thr Asp Leu Val Glu His Phe Lys
 1010 1015 1020
 Lys Thr Gly Ile Glu Glu Ala Ser Gly Ala Phe Val Tyr Leu Arg
 1025 1030 1035
 45 Gln Pro Tyr Ser Gly Gly Gly Ser Phe Glu Ala Tyr Phe Lys
 1040 1045 1050
 Lys Gln Gln Ala Asp Ser Asn Cys Gly Phe Ala Glu Glu Tyr Glu
 1055 1060 1065

RU 2717984 C2

	Asp	Leu	Lys	Leu	Val	Gly	Ile	Ser	Gln	Pro	Lys	Tyr	Ala	Ala	Glu
	1070						1075					1080			
	Leu	Ala	Glu	Asn	Arg	Gly	Lys	Asn	Arg	Tyr	Asn	Asn	Val	Leu	Pro
	1085						1090					1095			
5	Tyr	Asp	Ile	Ser	Arg	Val	Lys	Leu	Ser	Val	Gln	Thr	His	Ser	Thr
	1100						1105					1110			
	Asp	Asp	Tyr	Ile	Asn	Ala	Asn	Tyr	Met	Pro	Gly	Tyr	His	Ser	Lys
	1115						1120					1125			
	Lys	Asp	Phe	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	Pro	Leu	Pro	Asn	Thr	Leu	Lys
10		1130					1135					1140			
	Asp	Phe	Trp	Arg	Met	Val	Trp	Glu	Lys	Asn	Val	Tyr	Ala	Ile	Ile
	1145						1150					1155			
	Met	Leu	Thr	Lys	Cys	Val	Glu	Gln	Gly	Arg	Thr	Lys	Cys	Glu	Glu
	1160						1165					1170			
15	Tyr	Trp	Pro	Ser	Lys	Gln	Ala	Gln	Asp	Tyr	Gly	Asp	Ile	Thr	Val
	1175						1180					1185			
	Ala	Met	Thr	Ser	Glu	Ile	Val	Leu	Pro	Glu	Trp	Thr	Ile	Arg	Asp
	1190						1195					1200			
	Phe	Thr	Val	Lys	Asn	Ile	Gln	Thr	Ser	Glu	Ser	His	Pro	Leu	Arg
20		1205					1210					1215			
	Gln	Phe	His	Phe	Thr	Ser	Trp	Pro	Asp	His	Gly	Val	Pro	Asp	Thr
	1220						1225					1230			
	Thr	Asp	Leu	Leu	Ile	Asn	Phe	Arg	Tyr	Leu	Val	Arg	Asp	Tyr	Met
	1235						1240					1245			
25	Lys	Gln	Ser	Pro	Pro	Glu	Ser	Pro	Ile	Leu	Val	His	Cys	Ser	Ala
	1250						1255					1260			
	Gly	Val	Gly	Arg	Thr	Gly	Thr	Phe	Ile	Ala	Ile	Asp	Arg	Leu	Ile
	1265						1270					1275			
	Tyr	Gln	Ile	Glu	Asn	Glu	Asn	Thr	Val	Asp	Val	Tyr	Gly	Ile	Val
30		1280					1285					1290			
	Tyr	Asp	Leu	Arg	Met	His	Arg	Pro	Leu	Met	Val	Gln	Thr	Glu	Asp
	1295						1300					1305			
	Gln	Tyr	Val	Phe	Leu	Asn	Gln	Cys	Val	Leu	Asp	Ile	Val	Arg	Ser
	1310						1315					1320			
35	Gln	Lys	Asp	Ser	Lys	Val	Asp	Leu	Ile	Tyr	Gln	Asn	Thr	Thr	Ala
	1325						1330					1335			
	Met	Thr	Ile	Tyr	Glu	Asn	Leu	Ala	Pro	Val	Thr	Thr	Phe	Gly	Lys
	1340						1345					1350			
	Thr	Asn	Gly	Tyr	Ile	Ala	Ser	Gly	Ser						
40		1355					1360								
	<210>	51													
	<211>	424													
	<212>	Белок													
	<213>	Искусственная последовательность													
45	<220>														
	<223>	CAR на основе APRIL (на основе индуцирующего пролиферацию лиганда), APRIL CAR со стеблем CD8													
	<400>	51													

RU 2717984 C2

	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro			
1	5	10	15	
	Gly Ser Thr Gly Ser Val Leu His Leu Val Pro Ile Asn Ala Thr Ser			
	20	25	30	
5	Lys Asp Asp Ser Asp Val Thr Glu Val Met Trp Gln Pro Ala Leu Arg			
	35	40	45	
	Arg Gly Arg Gly Leu Gln Ala Gln Gly Tyr Gly Val Arg Ile Gln Asp			
	50	55	60	
	Ala Gly Val Tyr Leu Leu Tyr Ser Gln Val Leu Phe Gln Asp Val Thr			
10	65	70	75	80
	Phe Thr Met Gly Gln Val Val Ser Arg Glu Gly Gln Gly Arg Gln Glu			
	85	90	95	
	Thr Leu Phe Arg Cys Ile Arg Ser Met Pro Ser His Pro Asp Arg Ala			
	100	105	110	
15	Tyr Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly Val Phe His Leu His Gln Gly Asp			
	115	120	125	
	Ile Leu Ser Val Ile Ile Pro Arg Ala Arg Ala Lys Leu Asn Leu Ser			
	130	135	140	
	Pro His Gly Thr Phe Leu Gly Phe Val Lys Leu Ser Gly Gly Ser			
20	145	150	155	160
	Asp Pro Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr			
	165	170	175	
	Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala			
	180	185	190	
25	Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile			
	195	200	205	
	Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu			
	210	215	220	
	Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser			
30	225	230	235	240
	Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly			
	245	250	255	
	Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala			
	260	265	270	
35	Ala Tyr Arg Ser Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro			
	275	280	285	
	Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp			
	290	295	300	
	Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala			
40	305	310	315	320
	Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu			
	325	330	335	
	Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly			
	340	345	350	
45	Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu			
	355	360	365	
	Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser			
	370	375	380	

RU 2717984 C2

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
 385 390 395 400

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
 405 410 415

5 His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 52
 <211> 398
 <212> Белок

10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> CAR на основе APRIL (на основе индуцирующего пролиферацию лиганда),
 APRIL CAR на основе шарнира IgG1

<400> 52

15 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Ser Val Leu His Leu Val Pro Ile Asn Ala Thr Ser
 20 25 30

Lys Asp Asp Ser Asp Val Thr Glu Val Met Trp Gln Pro Ala Leu Arg
20 35 40 45

Arg Gly Arg Gly Leu Gln Ala Gln Gly Tyr Gly Val Arg Ile Gln Asp
 50 55 60

Ala Gly Val Tyr Leu Leu Tyr Ser Gln Val Leu Phe Gln Asp Val Thr
 65 70 75 80

25 Phe Thr Met Gly Gln Val Val Ser Arg Glu Gly Gln Gly Arg Gln Glu
 85 90 95

Thr Leu Phe Arg Cys Ile Arg Ser Met Pro Ser His Pro Asp Arg Ala
 100 105 110

Tyr Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly Val Phe His Leu His Gln Gly Asp
30 115 120 125

Ile Leu Ser Val Ile Ile Pro Arg Ala Arg Ala Lys Leu Asn Leu Ser
 130 135 140

Pro His Gly Thr Phe Leu Gly Phe Val Lys Leu Ser Gly Gly Ser
 145 150 155 160

35 Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 165 170 175

Cys Pro Lys Asp Pro Lys Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
 180 185 190

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
40 195 200 205

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
 210 215 220

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
 225 230 235 240

45 Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Asp Gln Arg Leu Pro
 245 250 255

Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile
 260 265 270

Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val
 275 280 285
 Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 290 295 300
 5 Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 305 310 315 320
 Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 325 330 335
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 10 340 345 350
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 355 360 365
 Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 370 375 380
 15 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 385 390 395
 <210> 53
 <211> 614
 <212> Белок
 20 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> CAR на основе APRIL (на основе индуцирующего пролиферацию лиганда),
 APRIL CAR на основе Fc-pvaa
 <400> 53
 25 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15
 Gly Ser Thr Gly Ser Val Leu His Leu Val Pro Ile Asn Ala Thr Ser
 20 25 30
 Lys Asp Asp Ser Asp Val Thr Glu Val Met Trp Gln Pro Ala Leu Arg
 30 35 40 45
 Arg Gly Arg Gly Leu Gln Ala Gln Gly Tyr Gly Val Arg Ile Gln Asp
 50 55 60
 Ala Gly Val Tyr Leu Leu Tyr Ser Gln Val Leu Phe Gln Asp Val Thr
 65 70 75 80
 35 Phe Thr Met Gly Gln Val Val Ser Arg Glu Gly Gln Gly Arg Gln Glu
 85 90 95
 Thr Leu Phe Arg Cys Ile Arg Ser Met Pro Ser His Pro Asp Arg Ala
 100 105 110
 Tyr Asn Ser Cys Tyr Ser Ala Gly Val Phe His Leu His Gln Gly Asp
 40 115 120 125
 Ile Leu Ser Val Ile Ile Pro Arg Ala Arg Ala Lys Leu Asn Leu Ser
 130 135 140
 Pro His Gly Thr Phe Leu Gly Phe Val Lys Leu Ser Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 45 Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 165 170 175
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 180 185 190

RU 2717984 C2

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ala Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 195 200 205
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 210 215 220
 5 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 225 230 235 240
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 245 250 255
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 10 260 265 270
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 275 280 285
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 290 295 300
 15 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 305 310 315 320
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 325 330 335
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 20 340 345 350
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 355 360 365
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 370 375 380
 25 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe Trp
 385 390 395 400
 Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
 405 410 415
 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
 30 420 425 430
 Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
 435 440 445
 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
 450 455 460
 35 Arg Ser Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly
 465 470 475 480
 Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His
 485 490 495
 Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 40 500 505 510
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 515 520 525
 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
 530 535 540
 45 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
 545 550 555 560
 Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
 565 570 575

5	Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr		
	580	585	590
	Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met		
	595	600	605
	Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
	610		

(57) Формула изобретения

1. Цитотоксическая Т-клетка, способная уничтожить опухолевую клетку-мишень, экспрессирующую первый антиген и второй антиген, где Т-клетка совместно экспрессирует первый химерный антигенный рецептор (CAR) и второй CAR на клеточной поверхности, где каждый CAR содержит:

- (i) антигенсвязывающий домен;
- (ii) спейсер;
- (iii) трансмембранный домен; и
- (iv) эндодомен,

где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, в которой первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит эндодомен CD3ξ, и

где второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45.

2. Т-клетка по п.1, в которой спейсер первого CAR имеет длину, и/или заряд, и/или размер, и/или конфигурацию, и/или гликозилирование, отличающиеся от спейсера второго CAR, так что, когда первый CAR и второй CAR связывают соответствующие им антигены-мишени, первый CAR и второй CAR становятся пространственно разделенными на мембране Т-клетки.

3. Т-клетка по любому из пп. 1 или 2, в которой или первый спейсер, или второй спейсер содержит «стебель» CD8, и другой спейсер содержит шарнирную область, домен CH2 и домен CH3 из IgG1.

4. Т-клетка по любому из пп. 1-3, в которой антигенсвязывающий домен первого CAR связывает CD5, и антигенсвязывающий домен второго CAR связывает CD19.

5. Нуклеиновая кислота, которая кодирует первый химерный антигенный рецептор (CAR) и второй CAR на клеточной поверхности, где каждый CAR содержит:

- (i) антигенсвязывающий домен;
- (ii) спейсер;
- (iii) трансмембранный домен; и
- (iv) эндодомен,

где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, в которой первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит эндодомен CD3ξ, и

где второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45.

6. Нуклеиновая кислота по п. 5, в которой спейсер первого CAR имеет длину, и/или заряд, и/или размер, и/или конфигурацию, и/или гликозилирование, отличающиеся от спейсера второго CAR, так что, когда первый CAR и второй CAR связывают соответствующие им антигены-мишени, первый CAR и второй CAR становятся

5 пространственно разделенными на мембране Т-клетки.

7. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 5 или 6, в которой или первый спейсер, или второй спейсер содержит «стебель» CD8, и другой спейсер содержит шарнирную область, CH2 домен и CH3 домен из IgG1.

8. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 5-7, в которой антигенсвязывающий домен 10 первого CAR связывает CD5, и антигенсвязывающий домен второго CAR связывает CD19.

9. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 5-8, которая имеет следующую структуру: AgB1-спейсер1-TM1-эндо1-коэкспр-AbB2-спейсер2-TM2-эндо2, в которой

15 AgB1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный 20 домен первого CAR;

эндо1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен первого CAR;

коэкспр представляет собой нуклеиновую кислоту, которая делает возможной коэкспрессию обоих CAR;

25 AgB2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный 30 домен второго CAR;

эндо2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен второго CAR;

где нуклеиновая кислота, когда экспрессирована в Т-клетке, кодирует полипептид, который расщепляется в сайте расщепления так, что первый и второй CAR совместно 35 экспрессированы на поверхности Т-клетки.

10. Нуклеиновая кислота по п. 9, в которой коэкспр кодирует последовательность, которая содержит саморасщепляющийся пептид.

11. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 5-10, в которой в областях, кодирующих те же или схожие аминокислотные последовательности, во избежание гомологичной

40 рекомбинации используют альтернативные кодоны.

12. Набор нуклеиновых кислот для получения клетки по любому из пп. 1-4, который содержит

(i) первую нуклеиновую кислоту, которая кодирует первый химерный антигенный рецептор (CAR), где нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

45 AgB1-спейсер1-TM1-эндо1, в которой

AgB1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер первого

CAR;

TM1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен первого

5 CAR; и

(ii) вторую нуклеиновую кислоту, которая кодирует второй химерный антигенный рецептор (CAR), где указанная нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2, где

AgB2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует

10 антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

15 эндо2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен второго CAR, где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, причём первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит

20 эндодомен CD3ξ, и

при этом второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45.

13. Набор нуклеиновых кислот для получения клетки по любому из пп. 1-4, который 25 содержит:

(i) первый вектор, который содержит первую нуклеиновую кислоту, кодирующую первый химерный антигенный рецептор (CAR), где нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB1-спейсер1-TM1-эндо1, в которой

30 AgB1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный 35 домен первого CAR;

эндо1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен первого CAR; и

(ii) второй вектор, который содержит вторую нуклеиновую кислоту, кодирующую второй химерный антигенный рецептор (CAR), где указанная нуклеиновая кислота

40 имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2, где

AgB2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер второго 45 CAR;

TM2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

эндо2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен

второго CAR, где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, причём первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит

5 эндодомен CD3 ξ , и

при этом второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45.

14. Набор по п. 13, в котором векторы представляют собой интегрирующие вирусные
10 векторы или транспозоны.

15. Вектор для получения Т-клетки по любому из пп. 1-4, который содержит нуклеиновую кислоту по пп. 5-11.

16. Вектор для получения Т-клетки по п. 15, который представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор или транспозон.

15 17. Способ получения цитотоксической Т-клетки по любому из пп. 1-4, который включает стадию введения:

(а) первого вектора экспрессии и второго вектора экспрессии, где

(и) первый вектор экспрессии содержит первую нуклеиновую кислоту, кодирующую первый химерный антигенный рецептор (CAR), где нуклеиновая кислота имеет

20 следующую структуру:

AgB1-спейсер1-TM1-эндо1, в которой

AgB1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер первого
25 CAR;

TM1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен первого CAR; и

30 (ii) второй вектор экспрессии содержит вторую нуклеиновую кислоту, кодирующую второй химерный антигенный рецептор (CAR), где указанная нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2, где

AgB2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

40 эндо2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен второго CAR, где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, причём первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит

45 эндодомен CD3 ξ , и

при этом второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45; или

(b) вектора по любому из пп. 15 или 16 в цитотоксическую Т-клетку.

18. Способ по п. 17, в котором указанная цитотоксическая Т-клетка происходит из образца, выделенного у субъекта.

19. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания путем уничтожения

⁵ опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген, которая содержит множество Т-клеток по любому из пп. 1-4.

20. Способ лечения и/или предотвращения заболевания путем уничтожения опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген, который включает стадию введения эффективного количества фармацевтической ¹⁰ композиции по п.19 субъекту.

21. Способ по п.20, который включает следующие стадии:

(i) выделение содержащего Т-клетки образца у субъекта;

(ii) трансдукция или трансфекция Т-клеток с использованием:

(a) нуклеиновой кислоты по любому из пп. 5-11;

¹⁵ (b) первой нуклеиновой кислоты и второй нуклеиновой кислоты, где

i. первая нуклеиновая кислота кодирует первый химерный антигенный рецептор (CAR), где нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB1-спейсер1-TM1-эндо1, в которой

AgB1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует

²⁰ антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

²⁵ эндо1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен первого CAR; и

ii. вторая нуклеиновая кислота кодирует второй химерный антигенный рецептор (CAR), где указанная нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2, где

³⁰ AgB2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует

антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный ³⁵ домен второго CAR;

эндо2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен второго CAR, где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, причём первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного

⁴⁰ тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит эндодомен CD3ξ, и

при этом второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45;

⁴⁵ (c) первого вектора и второго вектора, где

i. первый вектор содержит первую нуклеиновую кислоту, кодирующую первый химерный антигенный рецептор (CAR), где нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB1-спейсер1-TM1-эндо1, в которой

AgB1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует антигенсвязывающий домен первого CAR;

спейсер1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер первого CAR;

TM1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен первого CAR;

эндо1 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен первого CAR; и

10 ii. второй вектор содержит вторую нуклеиновую кислоту, кодирующую второй химерный антигенный рецептор (CAR), где указанная нуклеиновая кислота имеет следующую структуру:

AgB2-спейсер2-TM2-эндо2, где

AgB2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует

15 антигенсвязывающий домен второго CAR;

спейсер2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует спейсер второго CAR;

TM2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует трансмембранный домен второго CAR;

20 эндо2 представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует эндодомен второго CAR, где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, причём первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующий CAR, который содержит активирующий эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового активирующего мотива (ITAM), где активирующий эндодомен содержит

25 эндодомен CD3ξ, и

при этом второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45; или

(d) вектора по п.15 или 16; и

30 (iii) введение Т-клеток из (ii) субъекту.

22. Способ по любому из пп. 20 или 21, в котором заболевание представляет собой злокачественную опухоль.

23. Применение фармацевтической композиции по п.19 для лечения и/или предотвращения заболевания путем уничтожения опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген.

24. Применение Т-клетки по любому из пп. 1-4 при изготовлении лекарственного средства для лечения и/или предотвращения заболевания путем уничтожения опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген.

25. Применение Т-клетки по любому из пп. 1-4 для лечения и/или предотвращения 40 заболевания путем уничтожения опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген.

26. Клетка - естественный киллер (NK-клетка), способная уничтожить опухолевую клетку-мишень, экспрессирующую первый антиген и второй антиген, где NK-клетка совместно экспрессирует первый CAR и второй CAR на клеточной поверхности, где 45 каждый CAR содержит:

(i) антигенсвязывающий домен;

(ii) спейсер;

(iii) трансмембранный домен; и

(iv) эндодомен,

где спейсер первого CAR отличается от спейсера второго CAR, где первый CAR связывает первый антиген и представляет собой активирующуюший CAR, который содержит активирующуюший эндодомен, содержащий домен иммунорецепторного тирозинового 5 активирующего мотива (ITAM), где активирующуюший эндодомен содержит эндодомен CD3 ξ , и

где второй CAR связывает второй антиген и представляет собой ингибирующий CAR, который содержит ингибирующий эндодомен, где ингибирующий эндодомен содержит домен тирозиновой фосфатазы CD148 или CD45.

10 27. Композиция клеток для лечения заболевания путем уничтожения опухолевых клеток-мишеней, экспрессирующих первый антиген и второй антиген, которая содержит экспрессирующие CAR Т-клетки по любому из пп. 1-4 и/или экспрессирующие CAR NK-клетки по п.26, полученные посредством трансдукции образца крови ex vivo с использованием нуклеиновой кислоты, кодирующей первый и второй CAR, по любому 15 из пп. 5-11.

20

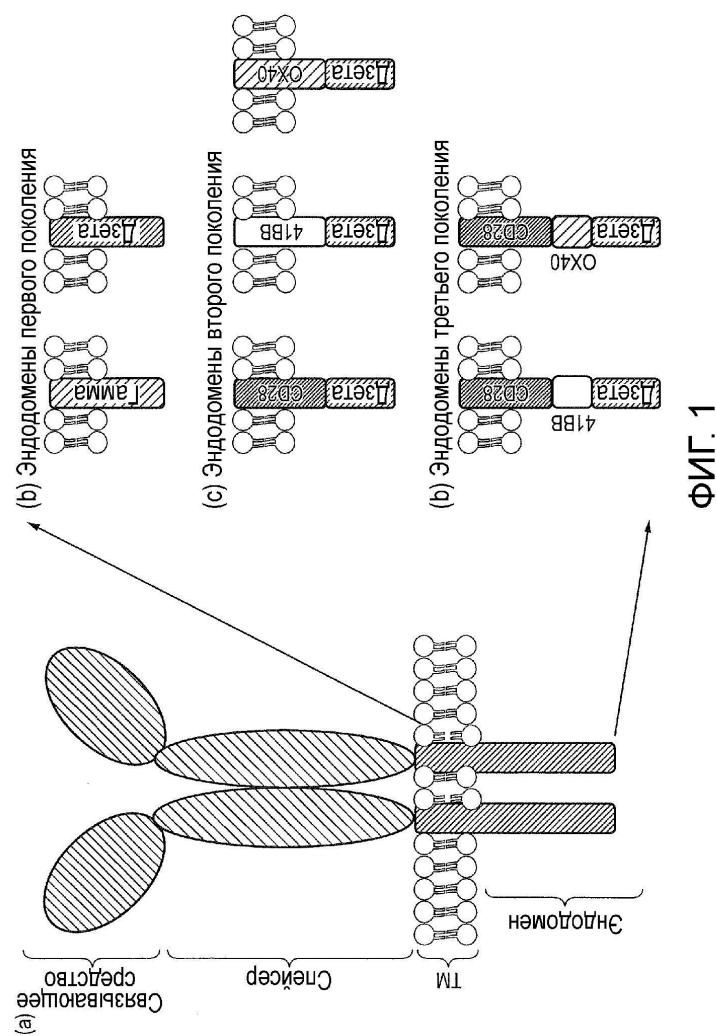
25

30

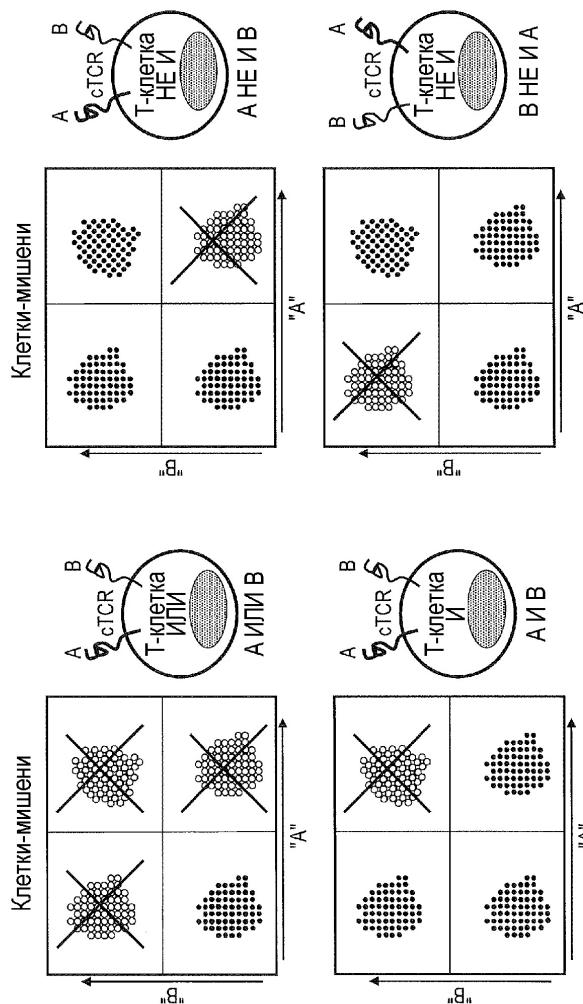
35

40

45

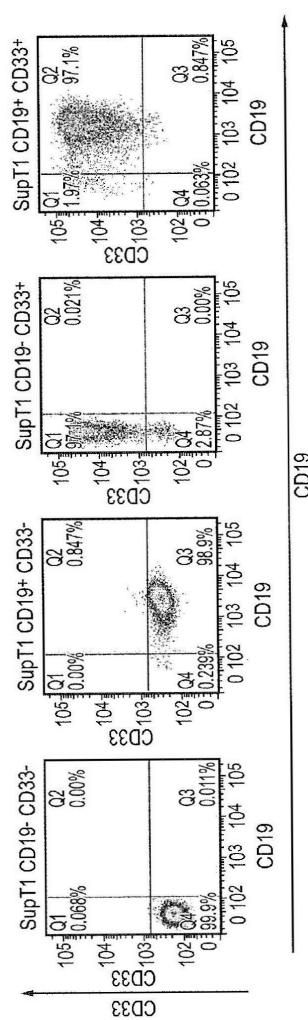


2/32



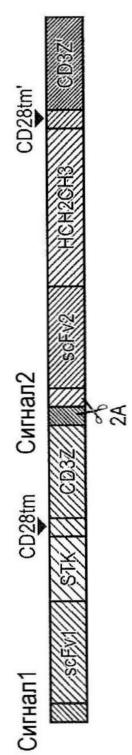
ФИГ. 2

3/32



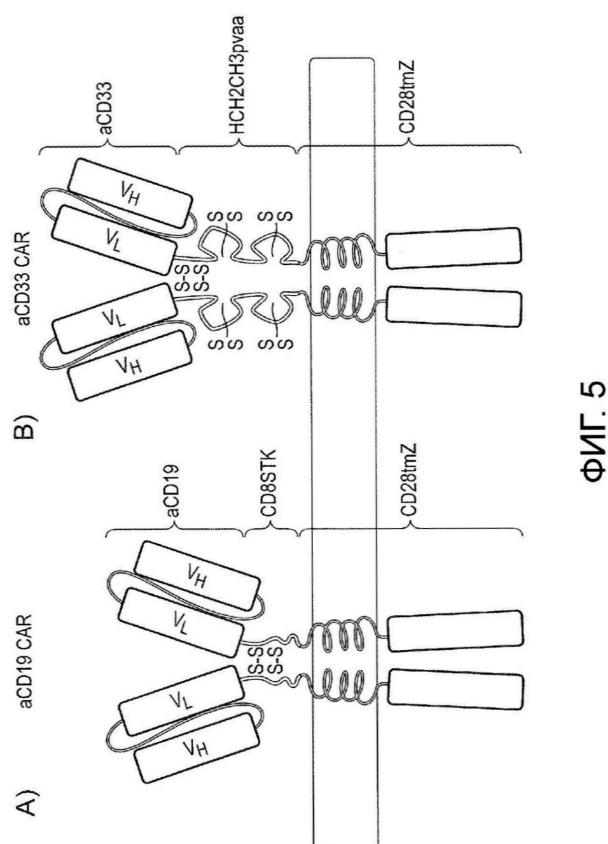
ФИГ. 3

4/32



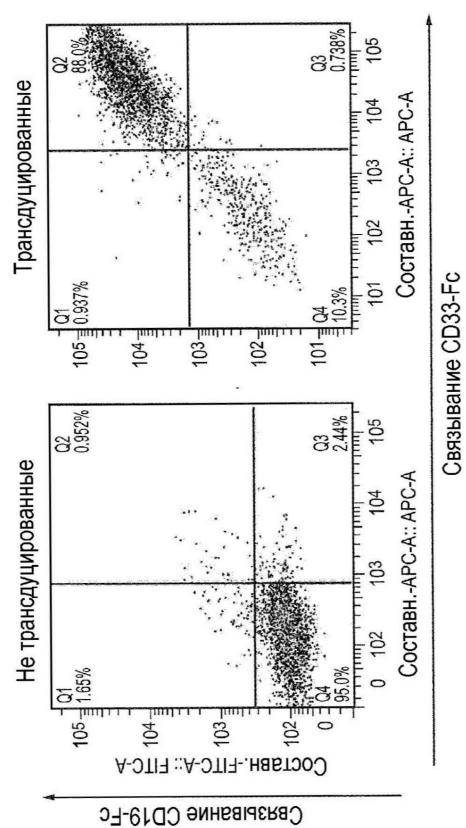
ФИГ. 4

5/32



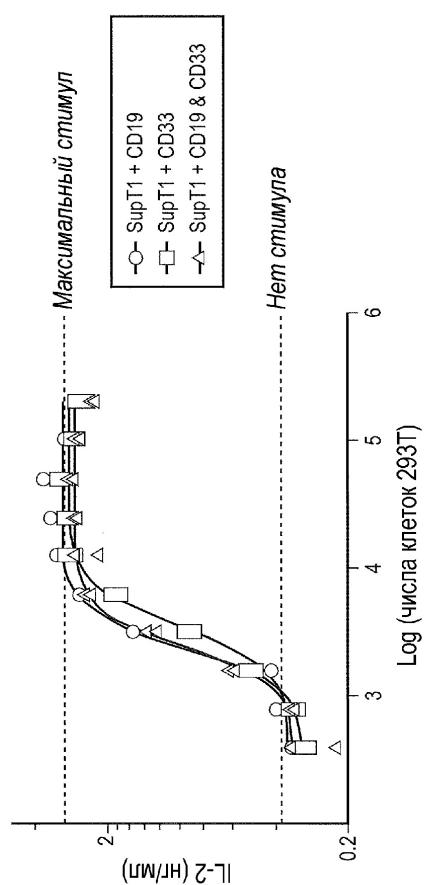
ΦИГ. 5

6/32



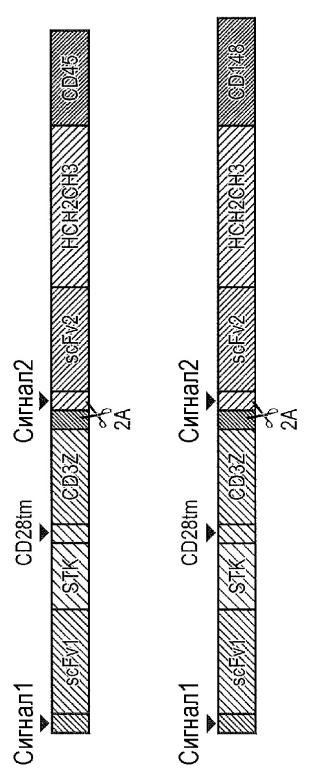
ФИГ. 6

7/32



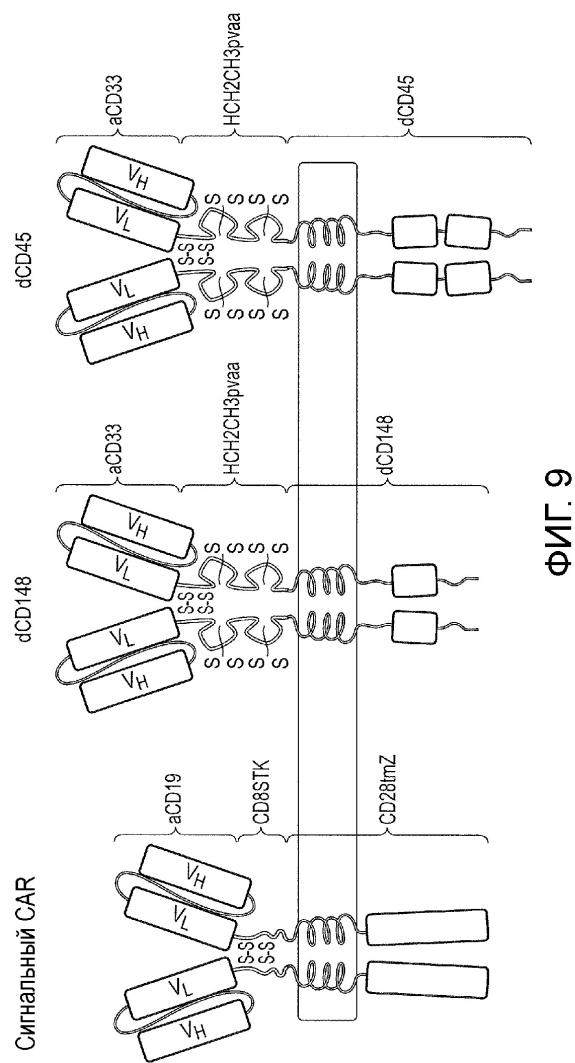
ФИГ. 7

8/32

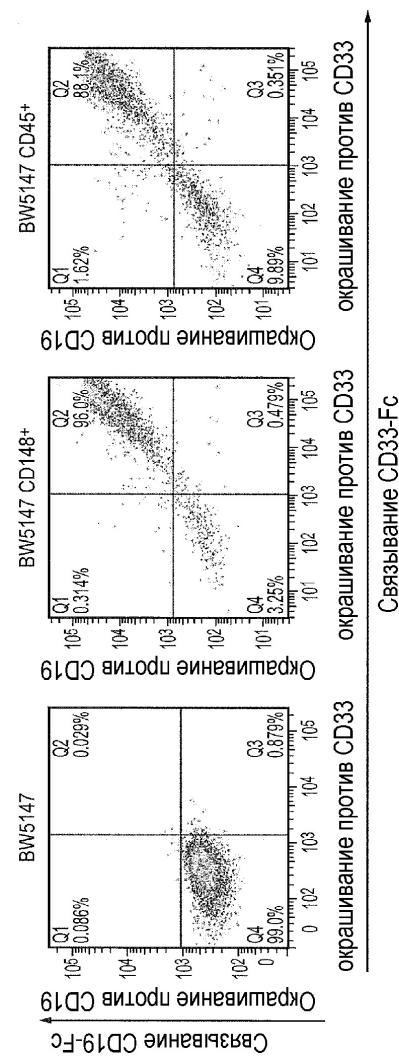


ФИГ. 8

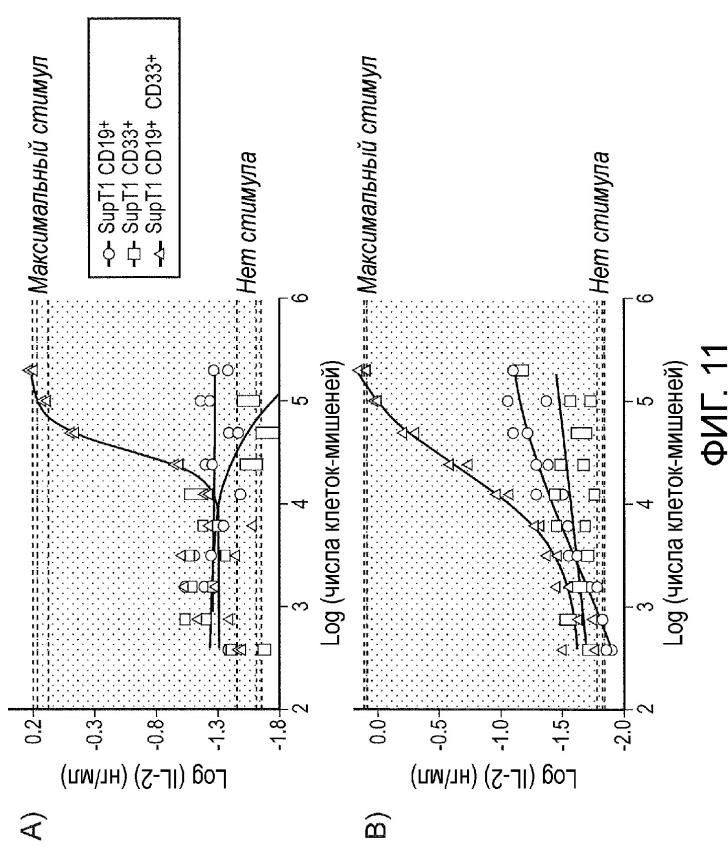
9/32



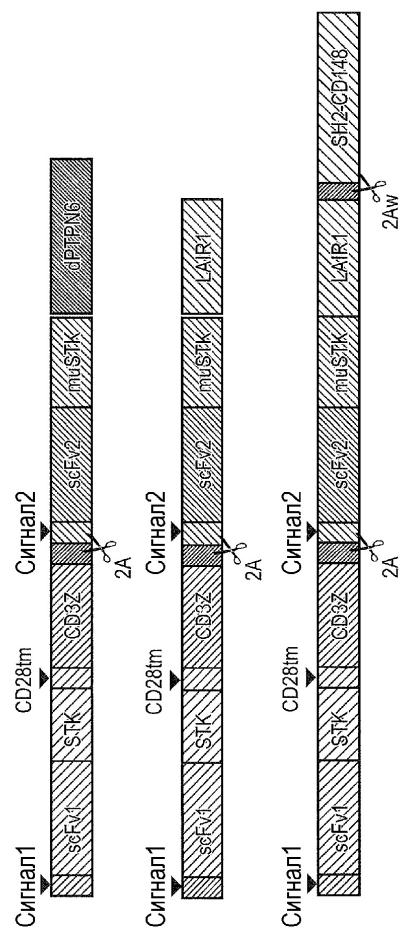
10/32

**ФИГ. 10**

11/32

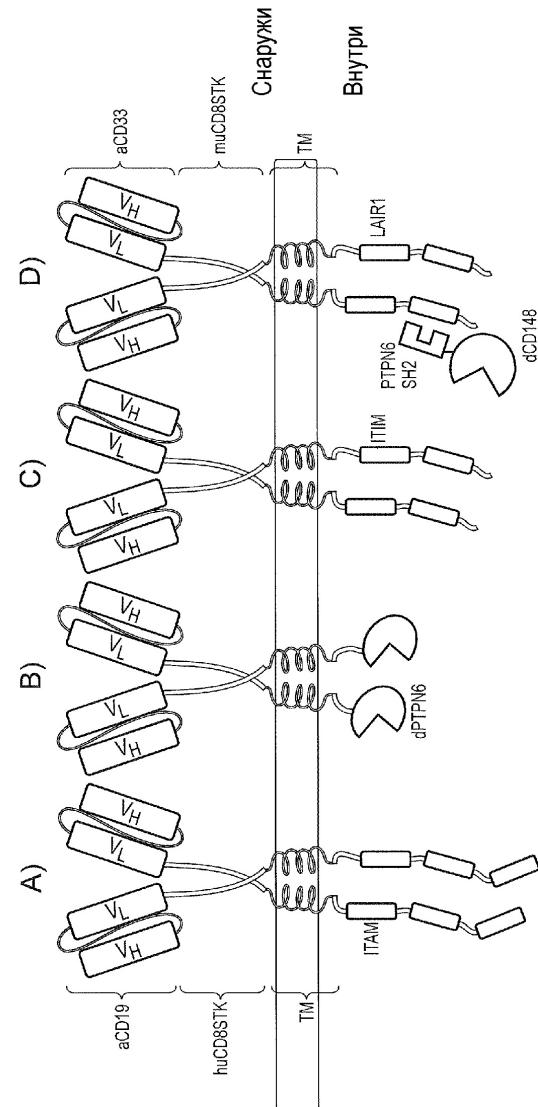


12/32



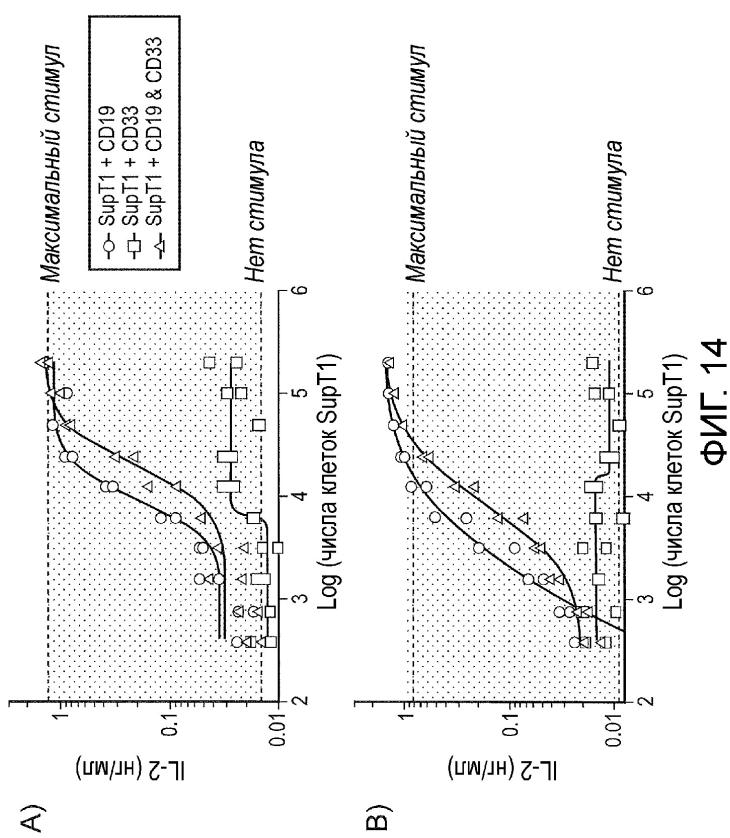
ФИГ. 12

13/32



ΦΙΓ. 13

14/32



15/32

>MP13974.SFG.aCD19fmc63_clean-CD85TK-CD28tmZ-2A-aCD33glx-HCH2CH3pvaa-CD28tmZw

Region	Description
Сигнал1	Сигнальный пептид 1
scFv1	scFv1 – против CD19
SDP	Линкер и разрыв цепи
ST1	Стебель CD8α
CD28tm2	Трансмембранный домен CD28 и эндодомен CD3ξ
FMD-2A	Пептид 2A ящура
Signal2	Сигнальный пептид 2
scFv2	scFv2 – против CD33
MDP	Линкер и разрыв цепи
HCH2CH3	Шарнир, CH2 и CH3 из IgG1 человека
CD28tm2	Трансмембранный домен CD28 и эндодомен CD3ξ

ФИГ. 15

16/32

MP14802.SFG.aCD19fm63_clean-CD85TK-CD28tmz-2A-aCD33gx-HCH2CH3pvaa-dCD45
MSLEVTTALLPLALLLHAARQDGMUTTSSLSASLGRDTV1SCRASDQDISKLWNYQKPDGTVKLLIYHTSRLHSVGSE
SG
SLSVTCTVSVGSLPDLGYWSVSPQPRPKLGELWVIGMSEETTYYNSALSRLLTUDNKSQVFLKMSLTDLTUYIYCAKHY
YGGGSAYMDYNGGOTSTVTPEDDPTVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPPVPP
SLLVTTAVF1F1FWVRKFSSRADAATPQYQCGCQCLYNEI1N1GRREYFDVLDRKRGRDPFMGGKCRKNNPQEGLYNEI1LQDK
EFSYICGMGERRKGKHGDLYQGLSTATAKD1YDALM0ALPRAEAGRSRLLTCGDVEENEG3JAV1PQV1GLL1WLTADRC
HLOMTOSSPSSTGCG
HGG
MSQACGK31EAVS-S-SENGGSM1YDOSM4KGRF15R0MAST-4L0MNSRHAET1A-V2-GAODAP1G3-1D1W067-0P
S5MDPELKPSDHTTCPKCPAFVGAVSFLPPKPKDLMIRTPEVTCVVVVDHSDEPVK-NWYVDCVVEVNHNATKPRE
EQYNISTRVSVU1V1LHQWNLNGKEYKRVSNKA1PTE15K1QGPQRPVQT1PSPDR1T1KQVS1LTC1KUEP
IAWEVWESNQOPENNYYKTTPVLDSDGSFLYSLK1TVUDKSRWQOGNVNSCSVMEALHNHYTQRLSLSPGKDPBLA1FAB
L11VT31LWVLYK1DHLHKRKSCLNDEQQLVERDEDEQKLMNVEPTHDIALETRK1ADEGRLFLEAFQSIPRVSFKF
IEKAREKPNQNKNRYYDILPYDNRVLESEINAGDSNYYIASYDGFKEPIR11AAGPRDE-VUDFWRM1WEQCATIVV
TRCEEGRNKCAEYWSMEECTRAFGWDVVKINQHRCPDY1QKLW1VNWKKA1GAEVTH1QTSWPDHGVEEDPHL111
RRVNAFNSFNSFGP1VHHCSACGVGRTG1Y1D1AYLEEAKN1VUDVYVYV1LQRORLICR1MVQAEVQ1L1HQALEYNNQFGE
FWNLW1S1LHPY1HNMKMRDPBPSPSEF1EAEFORLPSYRSTWTHQ1GNCENRKS1NNNSN1V1PYD1NMV1LHEMEKSE
D3ESSDDDSDEEFSSKYNAFIMSYWKPVEVMIAQAGPLKET1GDFWQM1FQRKV1V1MLT1EHDQJ1CAOYMGEGKQTY
D1EV1LWD1KDTD5SSTY1LHRVFLRHSRKRD5ERTVYCQYQTMWSVSEQLPAAEPKELISMQVVKQ1K1PQNSNSSEGNNKH1KSTPL
1HCRDGSQGTG1FC1LNL1LSEAS1EETVVD1FQV1KARLARGPMSMVFTEQY1F1YD1IYSTPAQ1GQVKNNH1QEDK1E1F
NEVDKVVKQDANCNVP1LGA1PEK1FEAKEQAEQEGS1STGTEPE1VNGSPAS1LNCGS

<i>Region</i>	<i>Description</i>
Сигнал scFv ₁ <i>SDP</i> <i>STS</i>	Сигнальный пептид 1 scFv1 – против CD19 Линкер и разрыв цепи Стебель CD8a
CD28tmZ	Трансмембранный домен CD28 и эндодомен CD3ξ
FMD-2A	Пептид 2A ящура
Signal2	Сигнальный пептид 2
scFv₂ <i>MOP</i>	scFv2 – против CD33 Линкер и разрыв цепи
CH2CH₃	Шарнир, CH2 и CH3 из IgG1 человека
scD148 / dcd45	Трансмембранный домен CD28 и эндодомен CD3ξ

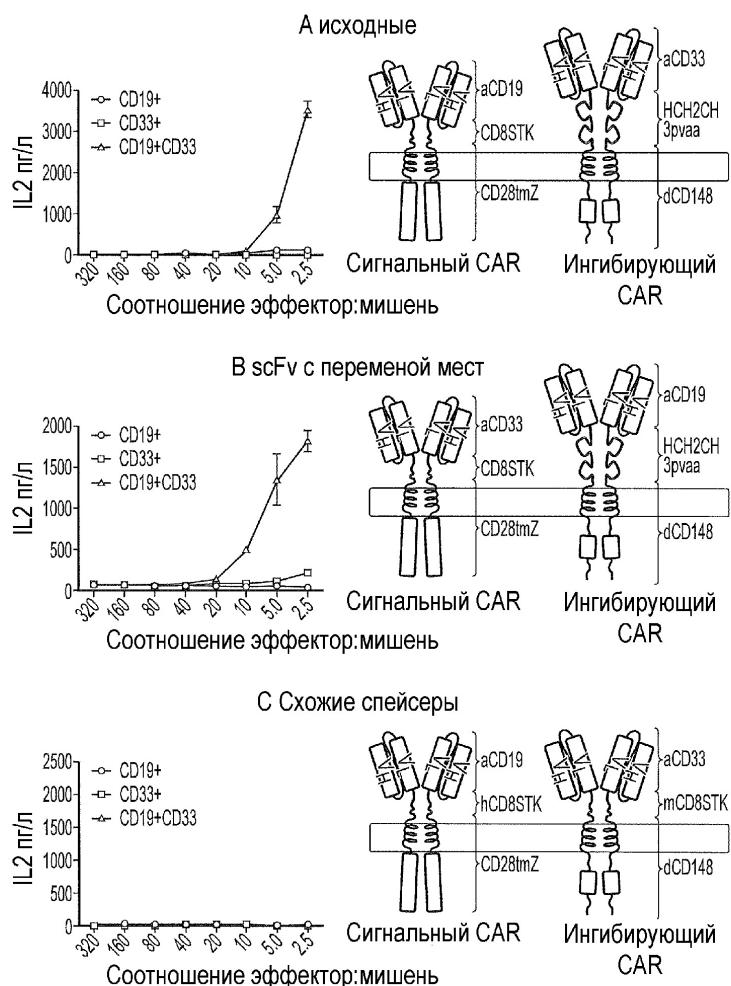
ФИГ. 16

17/32

<i>Region</i>	<i>Description</i>
Сигнал1	Сигнальный пептид 1
scFv1	scFv1 – против CD19
SDP	Линкер и разрыв цепи
SH3	Стебель CD8 человека
CD28tm2	Трансмембранный домен CD28 и эндодомен CD3;
FMD-2A	Пептид 2А ящура
Signal2	Сигнальный пептид 2
scFv2	scFv2 – против CD33
MDP	Линкер и разрыв цепи
ST4	Стебель CD8α мыши
HLAIN1	Шарнир, CH2 и CH3 из IgG1 человека
dPTPN6	Фосфатазный домен PTPN6
FMD-2A	Пептид 2А ящура с неоднозначностью кодонов
PTPN6-SH2	Домен SH2 из PTPN6
SG6663	Серин-глициновый линкер и разрыв цепи
ddCD148	Фосфатазный домен CD148

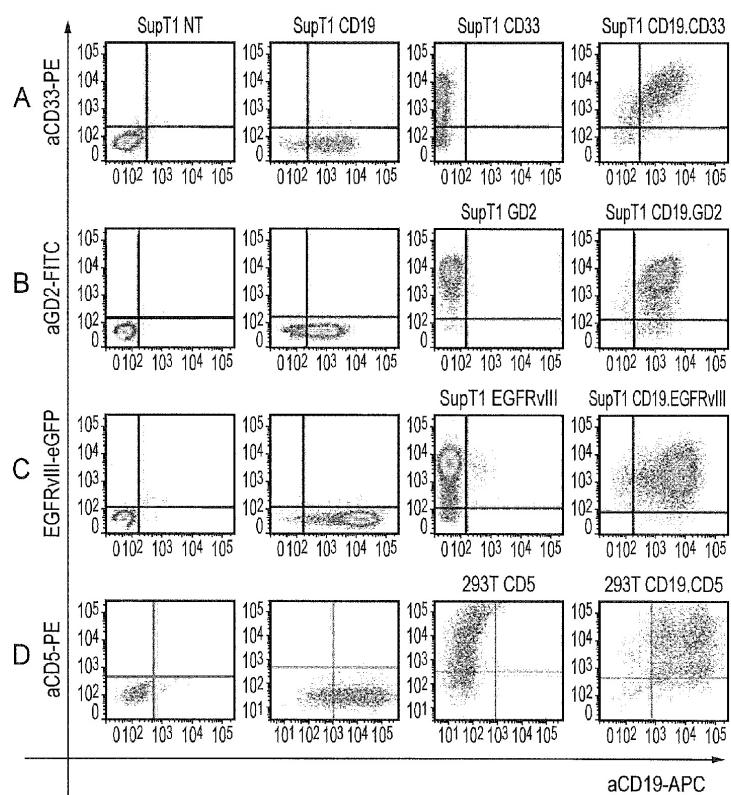
ФИГ. 17

18/32



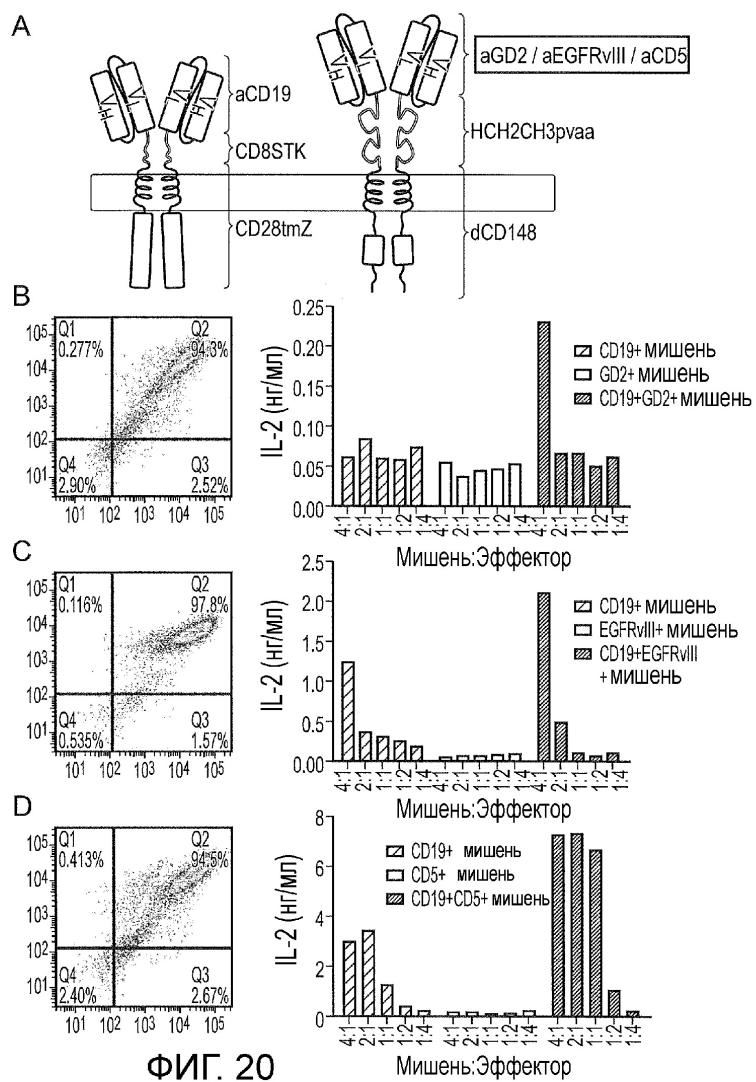
ФИГ. 18

19/32

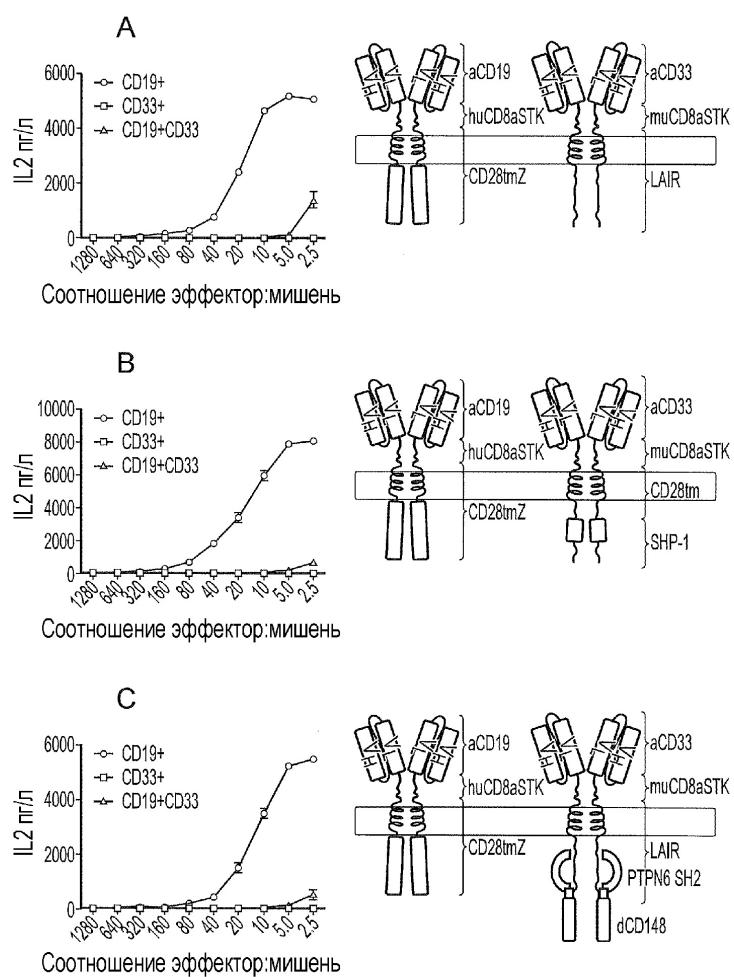


ФИГ. 19

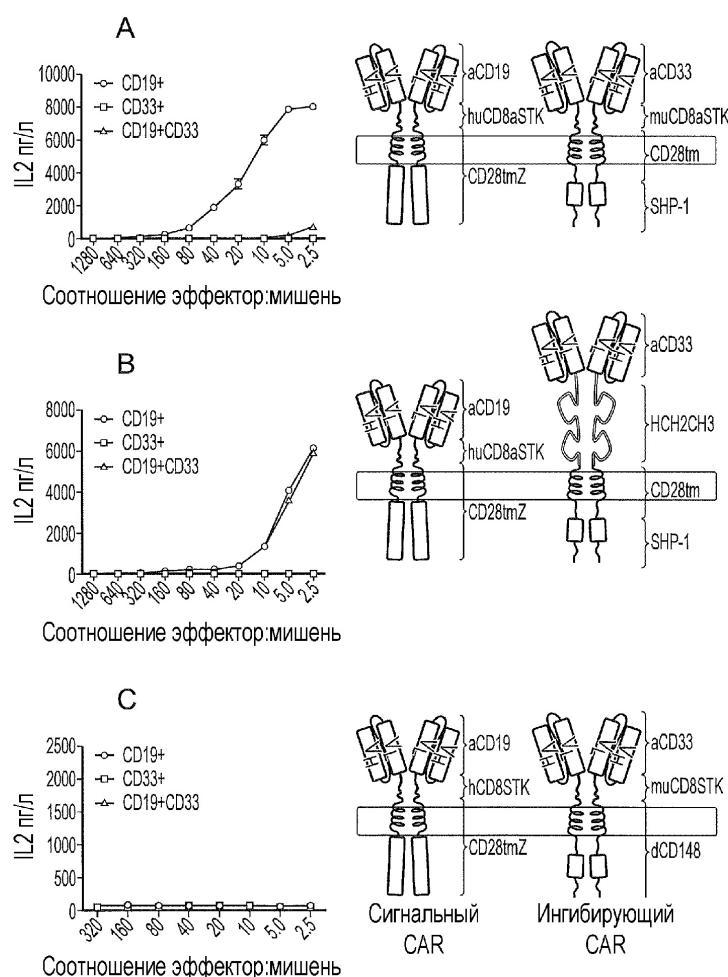
20/32



21/32

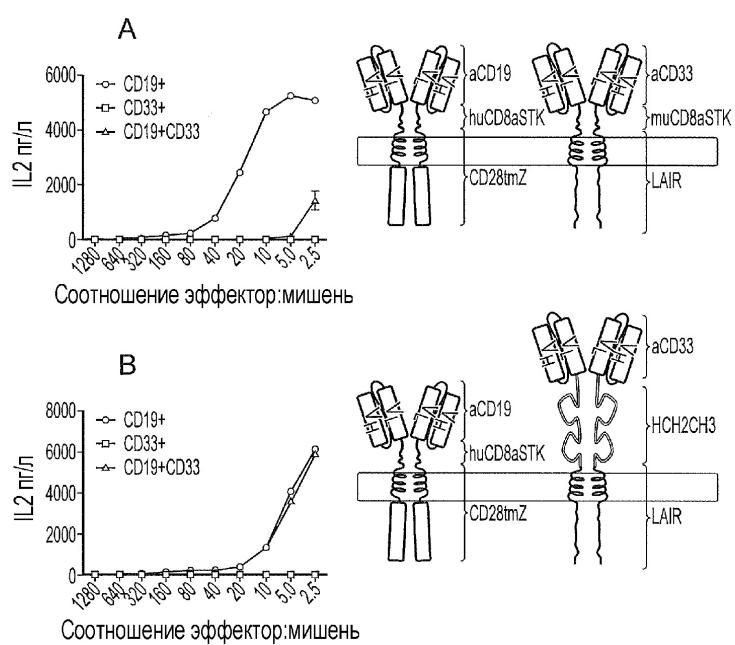


22/32



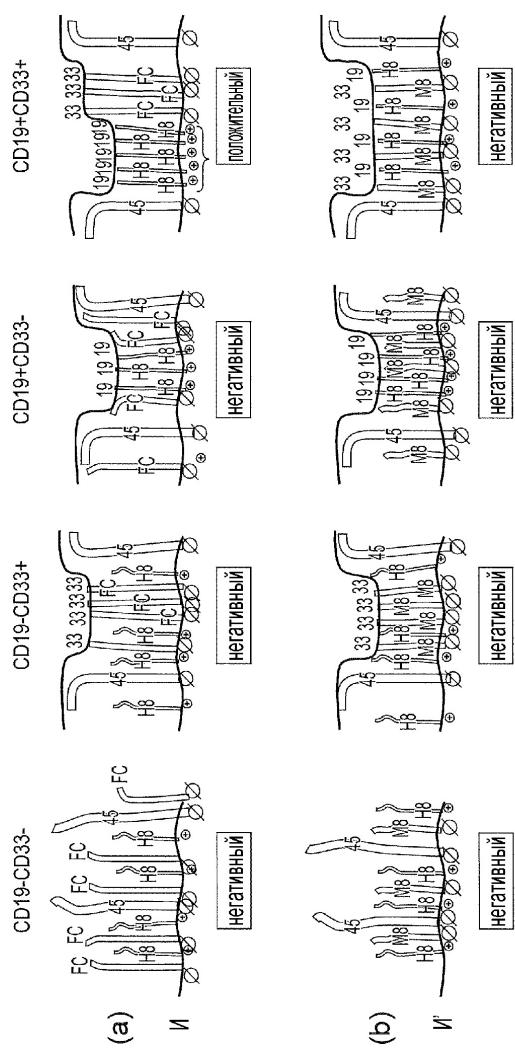
ФИГ. 22

23/32



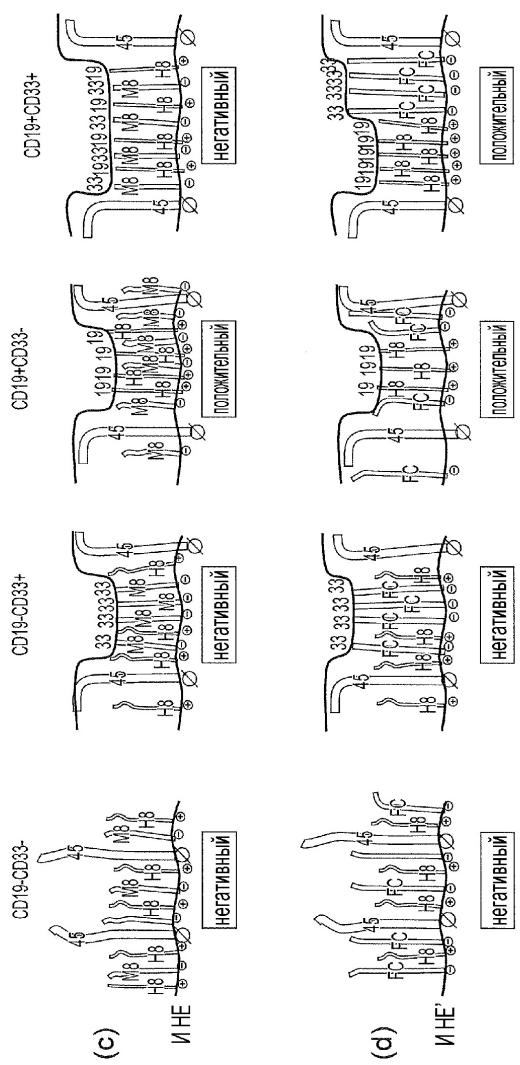
ФИГ. 23

24/32



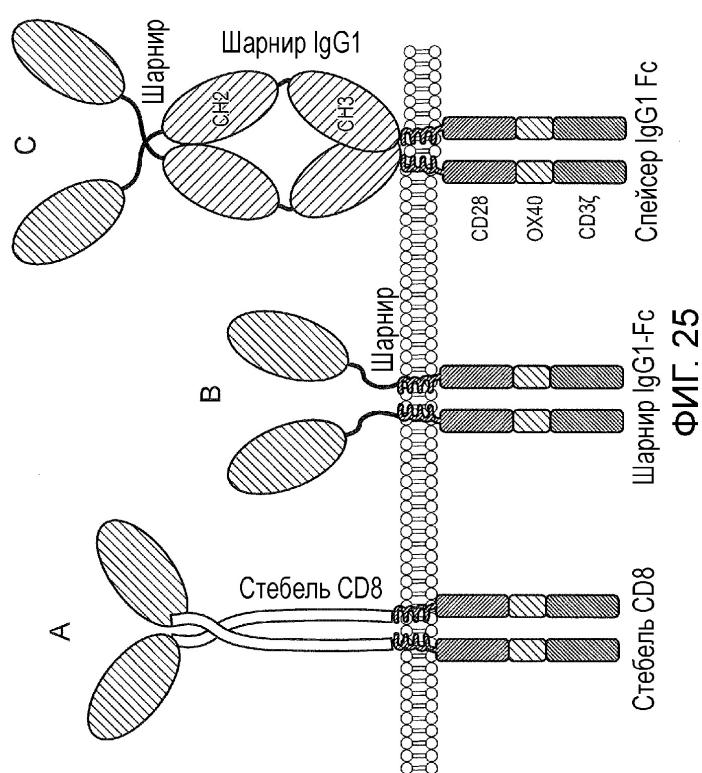
ФИГ. 24

25/32



ФИГ. 24 (Продолжение)

26/32



27/32

A

```

METDTLLWVLLWVPGSTGSVLHLPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRLQAQGYGVRIQDAGVY
LLYSQVLFQDVFTMGQVVSREGQGRQETLFCRCIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFLHHQDILSVIIPR
ARAKLNLSPHGTFLGFVKISGGGSDPAAKCCPRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKEFSRSADAPAYQQGQNOLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
WWVLLVVVGVLACYSLLVTVAFTIFWVRSKRSRLLHSYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA
AYRSDQRLLPPDAHKPPGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKEFSRSADAPAYQQGQNOLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
REEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

```

B

```

METDTLLWVLLWVPGSTGSVLHLPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRLQAQGYGVRIQDAGVY
LLYSQVLFQDVFTMGQVVSREGQGRQETLFCRCIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFLHHQDILSVIIPR
ARAKLNLSPHGTFLGFVKISGGGSDPAAKCCPRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKEFSRSADAPAYQQGQNOLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
WWVLLVVVGVLACYSLLVTVAFTIFWVRSKRSRLLHSYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA
AYRSDQRLLPPDAHKPPGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKEFSRSADAPAYQQGQNOLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
REEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

```

C

```

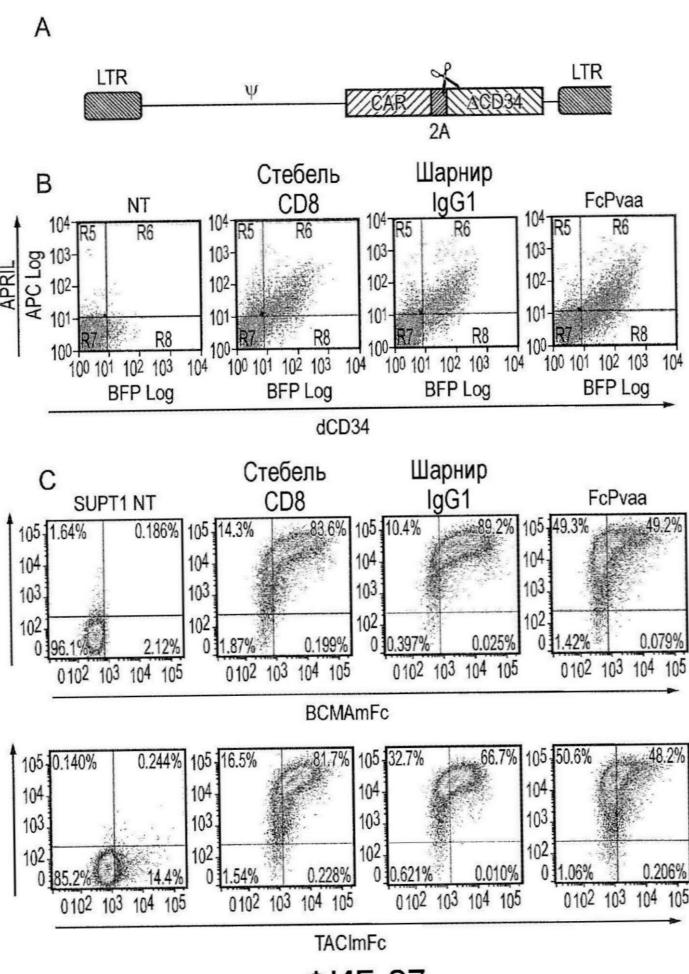
METDTLLWVLLWVPGSTGSVLHLPINATSKDDSDVTEVMWQPALRRGRLQAQGYGVRIQDAGVY
LLYSQVLFQDVFTMGQVVSREGQGRQETLFCRCIRSMPSHPDRAYNSCYSAGVFLHHQDILSVIIPR
ARAKLNLSPHGTFLGFVKISGGGSDPAAKCCPRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKEFSRSADAPAYQQGQNOLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
WWVLLVVVGVLACYSLLVTVAFTIFWVRSKRSRLLHSYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA
AYRSDQRLLPPDAHKPPGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKEFSRSADAPAYQQGQNOLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
REEDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELOKDKMAEAYSEIGMKGERRGKGHDGLYQGLSTA
TKDTYDALHMQALPPR

```

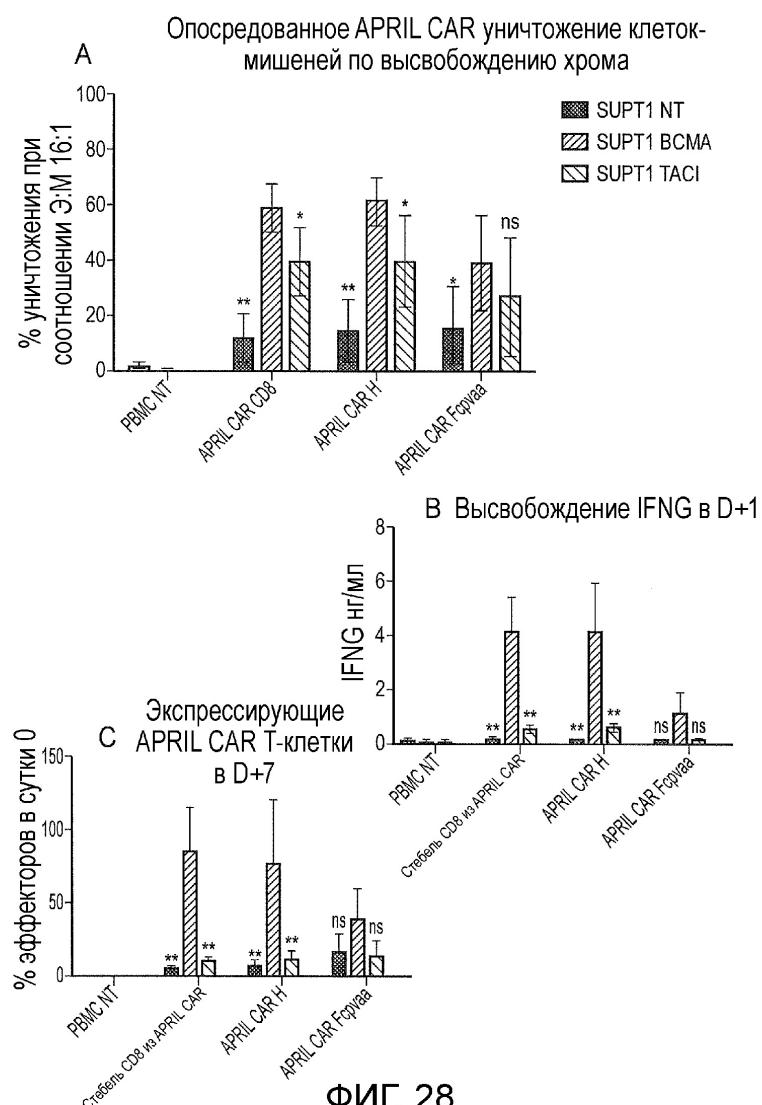
Сигнальный пептид:	Эффективный сигнальный пептид
DAPRIL	Усеченный APRIL
Слейсер	Любой из шарнира-CH2CH3 из IgG1 человека, стебля CD8 человека and шарнира IgG1 человека
ТМ и эндодомен	Составной эндодомен, состоящий из CD28TM, эндодомена CD28 и эндодоменов OX40 and CD3ξ

ФИГ. 26

28/32

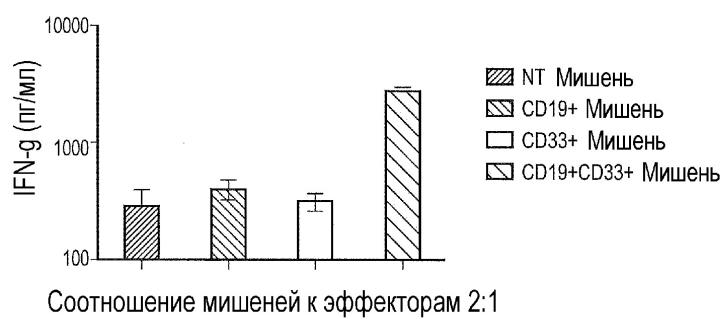


29/32



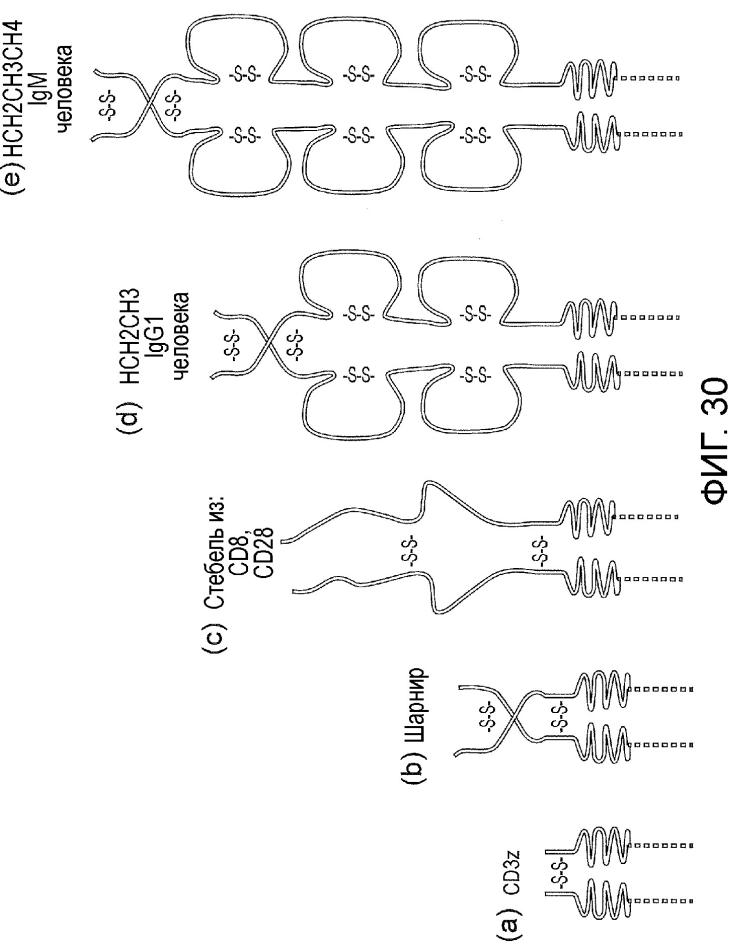
ФИГ. 28

30/32

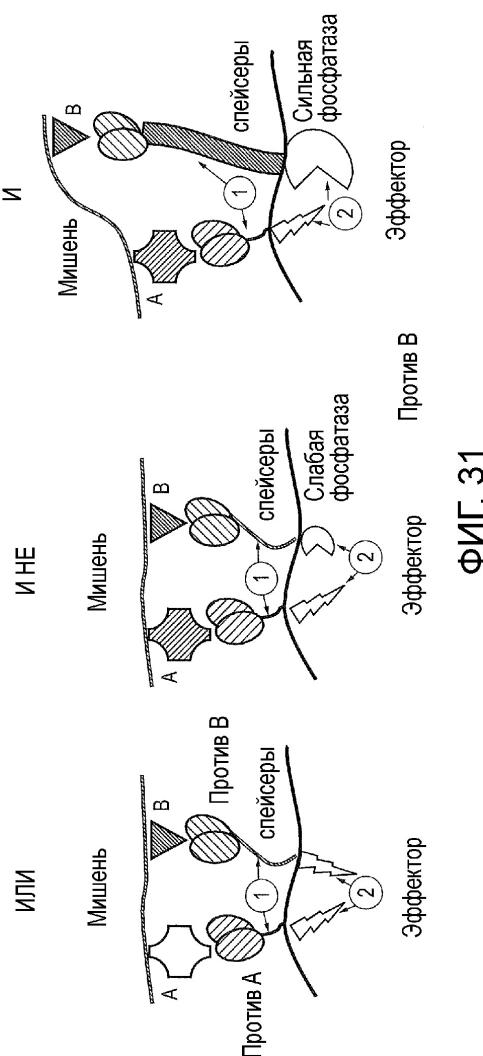


ФИГ. 29

31/32



32/32



ФИГ. 31