

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2017115808, 07.10.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
07.10.2014 DK PA201470623(43) Дата публикации заявки: 13.11.2018 Бюл. №
32(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 10.05.2017(86) Заявка РСТ:
EP 2015/073197 (07.10.2015)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/055551 (14.04.2016)

Адрес для переписки:

105082, Москва, Спартаковский пер., 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, ЕВРОМАРКПАТ

(71) Заявитель(и):

СЕЛЛЕКТИС (FR)

(72) Автор(ы):

ДЮШАТО Филипп (FR),
ЖУЙЭРА Александр (US),
ПУАРО Лорен (FR)

(54) СПОСОБ МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ CAR-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИММУННЫХ КЛЕТОК

(57) Формула изобретения

1. Способ модуляции уровня активации сконструированной иммунной клетки, включающий стадии:

(а) трансфекции иммунной клетки по меньшей мере первым полинуклеотидом, кодирующем химерный антигенный рецептор (CAR), который может быть активирован in-vivo и/или in vitro внешним лигандом и указанный CAR включает первый домен димеризации, и

(б) дополнительной трансфекции иммунной клетки, по меньшей мере, вторым полинуклеотидом, кодирующим сконструированный комплекс ингибирующего мембранного белка (IMP), включающим, по меньшей мере, один внутриклеточный ингибирующий сигнальный домен и один второй домен димеризации,

при этом иммунная клетка одновременно экспрессирует CAR и комплекс ингибирующего мембранного белка (IMP), и

(в) контактирования сконструированной иммунной клетки с внешним лигандом таким образом, что сигнал трансдуцируется CAR, и затем

(г) понижения уровня сигнальной трансдукции CAR путем добавления растворимого соединения, которое связывает домен димеризации молекулы IMP и домен димеризации молекулы CAR с формированием нековалентно связанного макромолекулярного комплекса между IMP и CAR,

таким образом, модулируя уровень активации сконструированной иммунной клетки.

2. Способ по п. 1, в котором сигнал трансдукции CAR заключается в активации иммунной клетки и иммунная клетка становится активированной.

3. Способ по п. 1 или 2, в котором формирование нековалентно связанного макромолекулярного комплекса IMP и CAR обладает способностью выключать сигнал трансдукции CAR.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором первый и второй домены димеризации являются доменами димеризации CID.

5. Способ по любому пп. 1-4, в котором иммунная клетка является Т-клеткой.

6. Способ по любому пп. 1-5, в котором CAR является одноцепочечным CAR.

7. Способ по любому пп. 1-5, в котором CAR является многоцепочечным CAR.

8. Способ по любому пп. 1-7, в котором домены димеризации являются внеклеточными.

9. Способ по любому пп. 1-7, в котором оба домена димеризации являются внутриклеточными.

10. Способ по любому пп. 1-9, в котором ингибирующий сигнальный домен происходит из PD1.

11. Способ по любому пп. 1-10, в котором растворимое соединение является рапалогом.

12. Способ по любому пп. 1-10, в котором растворимое соединение является рапамицином.

13. Способ по любому пп. 1-12, в котором первый и второй домены димеризации по меньшей мере на 80% идентичны SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15, соответственно.

14. Способ по любому пп. 1-10, в котором растворимое соединение является биспецифичным антителом.

15. Способ получения сконструированной иммунной клетки, в которой уровень активации химерным антигенным рецептором (CAR) контролируется комплексом ингибирующего мембранного белка (IMP), включающий стадии:

(а) трансфекции иммунной клетки по меньшей мере первым полинуклеотидом, кодирующем CAR, причем CAR включает первый домен димеризации, и

(б) трансфекции иммунной клетки по меньшей мере вторым полинуклеотидом, кодирующим сконструированный комплекс IMP, причем комплекс IMP включает по меньшей мере один ингибирующий сигнальный домен и один второй домен димеризации, который должен контактировать с растворимым соединением, которое транслоцирует ингибирующий домен, и

(в) выбора иммунных клеток, в которых первый и второй полинуклеотиды совместно экспрессируются в их мембране,

причем оба домена димеризации способны связываться нековалентно друг с другом через присутствующее растворимое соединение.

16. Способ по п. 15, в котором трансфекцию осуществляют с помощью ретровирусного вектора.

17. Способ по п. 15, в котором трансфекцию осуществляют с помощью полицистронной CAR/IMP-кодирующей мРНК.

18. Способ по любому пп. 15-17, включающий дополнительную стадию инактивации по меньшей мере одного гена, кодирующего компонент рецептора Т-клеток (TCR).

19. Способ по п. 18, в котором стадию инактивации, по меньшей мере, одного гена, кодирующего компонент рецептора Т-клеток (TCR), осуществляют с помощью нуклеазы TALE.

20. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP, включающий по меньшей мере два трансмембранных химерных полипептида:

- первый полипептид, кодирующий химерный антигенный рецептор, который

включает один домен димеризации,

- второй полипептид, кодирующий сконструированный комплекс ингибирующего мембранного белка (IMP), включающий по меньшей мере один внутриклеточный ингибирующий сигнальный домен и один домен димеризации,

причем оба домена димеризации способны связываться друг с другом нековалентно через присутствующее растворимое соединение.

21. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP по п. 20, в котором оба домена димеризации расположены внеклеточно.

22. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP по п. 20 или 21, в котором CAR является многоцепочечным CAR.

23. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP по п. 20 или 21, в котором CAR является одноцепочечным CAR.

24. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP по любому пп. 20-23, в котором ингибирующим доменом является PD-1.

25. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP по любому пп. 20-24, в котором доменом димеризации является FKBP или FRB.

26. Ингибирующий двойной комплекс CAR/IMP по п. 25, в котором первый и второй домены димеризации по меньшей мере на 80% идентичны SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15, соответственно.

27. Сконструированная иммунная клетка, которая экспрессирует на своей поверхности CAR наряду с ингибирующим мембранным белком (IMP), причем каждый из полипептидов - и CAR, и ингибирующий трансмембранный белок - включают домен димеризации, и оба домена димеризации взаимодействуют с одним и тем же растворимым соединением с формированием нековалентно связанного молекулярного комплекса между IMP и CAR.

28. Сконструированная иммунная клетка по п. 27, в которой указанный ингибирующий домен химерного полипептида IMP выбран из PD-1, CTLA-4, LAG3, Tim3, BTLA, BY55, TIGIT, LAIR1, SIGLEC10, 2B4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22, CD96, CRTAM, SIGLEC7, SIGLEC9, TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7, FADD, FAS, TGFBRII, TGFRBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1, IL10RA, IL10RB, HMOX2, IL6R, IL6ST, EIF2AK4, CSK, PAG1, SIT1, FOXP3, PRDM1, BATF, GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3.

29. Сконструированная иммунная клетка по п. 27 или 28, в которой оба домена димеризации являются внеклеточными.

30. Сконструированная иммунная клетка по п. 27 или 28, в которой оба домена димеризации являются внутриклеточными.

31. Сконструированная иммунная клетка по любому пп. 27-30, в которой CAR является многоцепочечным CAR (mcCAR).

32. Сконструированная иммунная клетка по п. 31, в которой mcCAR включает по меньшей мере альфа-цепь (FC ϵ R α), бета-цепь (FC ϵ R β) и гамма-цепь (FC ϵ R γ).

33. Сконструированная иммунная клетка по п. 32, в которой домен димеризации является частью альфа-цепи (FC ϵ R α).

34. Сконструированная иммунная клетка по любому пп. 32-33, в которой mcCAR включает:

- альфа-цепь (FC ϵ R α), содержащую, по меньшей мере:

- (а) сигнальную последовательность и антиген-специфичную целевую область,
- (б) домен димеризации,
- (в) внеклеточный спейсерный домен (шарнир),
- (г) трансмембранный домен,

- бета-цепь (FC ϵ R β), содержащую, по меньшей мере:

- (а) сигнальную последовательность,
- (б) внеклеточный спейсерный домен (шарнир),
- (в) трансмембранный домен,
- (г) ко-стимулирующий лиганд,
- гамма-цепь (FC ϵ R γ), содержащую, по меньшей мере:
 - (а) сигнальную последовательность,
 - (б) внеклеточный спейсерный домен (шарнир),
 - (в) трансмембранный домен,
 - (г) сигнал-трансдуцирующий домен.

35. Сконструированная иммунная клетка по любому пп. 27-34, в которой иммунная клетка получена от донора.

36. Сконструированная иммунная клетка по любому пп. 27-34, в которой иммунная клетка получена от самого пациента.

37. Сконструированная иммунная клетка по любому пп. 27-36 для применения в способе лечения пациента, нуждающегося в таком лечении, причем указанный способ включает:

- введение иммунной клетки пациенту,
- введение химического индуктора димеризации (CID) для модуляции активации иммунной клетки в организме пациента.

38. Сконструированная иммунная клетка для применения по п. 37, в котором химическим индуктором димеризации (CID) является рапамицин.