

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

(21)(22) Заявка: 2019104074, 17.07.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

15.07.2016 US 62/362,746;

06.10.2016 US 62/405,180;

08.05.2017 US 62/503,127

(43) Дата публикации заявки: 18.08.2020 Бюл. № 23

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 15.02.2019

(86) Заявка РСТ:

US 2017/042454 (17.07.2017)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2018/014038 (18.01.2018)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спаская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

ПОСЕЙДА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ОСТЕРТАГ, Эрик (US),

ШЕДЛОК, Девон (US)

(54) **ХИМЕРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ АНТИГЕНОВ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(57) Формула изобретения

1. Химерный рецептор антигена (CAR), содержащий:

(a) эктодомен, содержащий область узнавания антигена, где область узнавания антигена содержит по меньшей мере один центирин;

(b) трансмембранный домен, и

(c) эндодомен, содержащий по меньшей мере один костимулирующий домен.

2. CAR по п.1, где эктодомен из (a) дополнительно содержит сигнальный пептид.

3. CAR по п.1 или 2, где эктодомен из (a) дополнительно содержит шарнир между областью узнавания антигена и трансмембранным доменом.

4. CAR по п.2 или 3, где сигнальный пептид содержит последовательность, кодирующую сигнальный пептид CD2, CD3δ, CD3ε, CD3γ, CD3ζ, CD4, CD8α, CD19, CD28, 4-1BB или GM-CSFR человека.

5. CAR по п.2 или 3, где сигнальный пептид содержит последовательность, кодирующую сигнальный пептид CD8α человека.

6. CAR по п.5, где сигнальный пептид содержит аминокислотную последовательность, содержащую MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 3).

7. CAR по п.5 или 6, где сигнальный пептид кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей atggcactgccagtcaccgccctgctgctgcctctggctctgctgctgcacgc

agctagacca (SEQ ID NO: 45).

8. CAR по любому из предшествующих пунктов, где трансмембранный домен содержит последовательность, кодирующую трансмембранный домен CD2, CD3δ, CD3ε, CD3γ, CD3ζ, CD4, CD8α, CD19, CD28, 4-1BB или GM-CSFR человека.

9. CAR по любому из предшествующих пунктов, где трансмембранный домен содержит последовательность, кодирующую трансмембранный домен CD8α человека.

10. CAR по п.9, где трансмембранный домен содержит аминокислотную последовательность, содержащую IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO: 4).

11. CAR по п.9 или 10, где трансмембранный домен кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей atctacattgggcaccactggccgggacctgtggagtgtgtgtgtgagcctggatcatcacactgtactgc (SEQ ID NO: 5).

12. CAR по любому из предшествующих пунктов, где эндодомен содержит эндодомен CD3ζ человека.

13. CAR по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере один костимулирующий домен содержит внутриклеточный фрагмент 4-1BB, CD28, CD40, ICOS, MyD88, OX-40 человека, или любую их комбинацию.

14. CAR по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере один костимулирующий домен содержит костимулирующий домен CD28 и/или 4-1BB человека.

15. CAR по п.13 или 14, где костимулирующий домен CD28 содержит аминокислотную последовательность, содержащую rvkfsrsadapaykqgqnlqlynelnlgrreedyvldkrrgrdpemggkprknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrrgkghdglyqglstatkdydalhmqlppr (SEQ ID NO: 6).

16. CAR по п.15, где костимулирующий домен CD28 кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей cgcgtgaagttagtcgatcagcagatgccccagcttacaacaggagacagaaccagctgtataacagagctgaatctgggcccggagaggaatatgacgtgctggataagcggagaggacgcgaccccgaaatgggaggcaagcccaggcgcaaaaaccctcaggaaggcctgtataacagagctgcagaaggacaaaatggcagaagcctattctgagatcgccatgaagggggagcgacggagaggcaaaaggacacgatgggctgtaccagggactgagcaccgccacaaaggacacctatgatgctctgcatatgcaggcactgcctccaagg (SEQ ID NO: 7).

17. CAR по п.13 или 14, где костимулирующий домен 4-1BB содержит аминокислотную последовательность, содержащую krgrkllyifkqpfmrpvqtqeedgcscrpfpeeeeggcel (SEQ ID NO: 8).

18. CAR по п.17, где костимулирующий домен 4-1BB кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей aagagaggcaggaagaaactgctgtatatatttcaaacagccctcatcgcccctgtcgactaccaggaggaagacgggtgctcctgtcgtatccctgaggaagaggaaggcgggtgtgagctg (SEQ ID NO: 9).

19. CAR по любому из пп. 14-18, где костимулирующий домен 4-1BB локализован между трансмембранным доменом и костимулирующим доменом CD28.

20. CAR по любому из пп. 2-19, где шарнир содержит последовательность, происходящую из последовательности CD8α, IgG4 и/или CD4 человека.

21. CAR по любому из пп. 2-19, где шарнир содержит последовательность, происходящую из последовательности CD8α человека.

22. CAR по п.20 или 21, где шарнир содержит аминокислотную последовательность, содержащую ttpraprpptpartiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacd (SEQ ID NO: 10).

23. CAR по п.22, где шарнир кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей actaccacaccagcacctagaccaccaactccagctccaaccatcgcgagtcagccctgagctctgagacctgaggcctgcaggccagctgcaggaggagctgtgcacaccagggcctggacttcgcctgcgac (SEQ ID NO: 11).

24. CAR по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере один центрин содержит белковый каркас, способный специфически связывать антиген.

25. CAR по любому из предшествующих пунктов, где по меньшей мере один центрин содержит белковый каркас, содержащий консенсусную последовательность по меньшей мере одного домена фибронектина типа III (FN3), где каркас является способным

специфически связывать антиген.

26. CAR по п.25, где по меньшей мере один домен фибронектина типа III (FN3) происходит из белка человека.

27. CAR по п.26, где белок человека представляет собой тенасцин-С.

28. CAR по любому из пп. 25-27, где консенсусная последовательность содержит LPAPKNLVVSEVTEDSLRLSWTAPDAAFDSFLIQYQESEKVGAINLTVPGSERSYDL TGLKPGTEYTVSIYGVKGGHRSNPLSAEFTT (SEQ ID NO: 1).

29. CAR по любому из пп. 25-27, где консенсусная последовательность содержит MLPAPKNLVVSEVTEDSLRLSWTAPDAAFDSFLIQYQESEKVGAINLTVPGSERSYD LTGLKPGTEYTVSIYGVKGGHRSNPLSAEFTT (SEQ ID NO: 13).

30. CAR по п.29, где консенсусная последовательность кодирована последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей atgctgcctgcaccaagaacctggtggt gtctcatgtgacagaggatagtgccagactgtcatggactgtcccgcagcagccttcgatagttttatcatcgtgtaccgggagaaacatcg aaaccggcgaggccattgtcctgacagtgtccagggtccgaacgtcttatgacctgacagatctgaagccccggaactgagtactatgtgc agatcgccggcgtaaggaggcaatcagcttcctctgtccgaatcttcaccaca (SEQ ID NO: 14).

31. CAR по любому из пп. 25-30, где консенсусная последовательность является модифицированной в одном или более положениях внутри

(a) петли A-B, содержащей или состоящей из аминокислотных остатков TEDS (SEQ ID NO: 15) в положениях 13-16 консенсусной последовательности;

(b) петли B-C, содержащей или состоящей из аминокислотных остатков TAPDAAF (SEQ ID NO: 16) в положениях 22-28 консенсусной последовательности;

(c) петли C-D, содержащей или состоящей из аминокислотных остатков SEKVG (SEQ ID NO: 17) в положениях 38-43 консенсусной последовательности;

(d) петли D-E, содержащей или состоящей из аминокислотных остатков GSER (SEQ ID NO: 18) в положениях 51-54 консенсусной последовательности;

(e) петли E-F, содержащей или состоящей из аминокислотных остатков GLKPG (SEQ ID NO: 19) в положениях 60-64 консенсусной последовательности;

(f) петли F-G, содержащей или состоящей из аминокислотных остатков KGGHRSN (SEQ ID NO: 20) в положениях 75-81 консенсусной последовательности; или

(g) в любой комбинации (a)-(f).

32. CAR по любому из пп. 25-31, содержащий консенсусную последовательность по меньшей мере 5 доменов фибронектина типа III (FN3).

33. CAR по любому из пп. 25-31, содержащий консенсусную последовательность по меньшей мере 10 доменов фибронектина типа III (FN3).

34. CAR по любому из пп. 25-31, содержащий консенсусную последовательность по меньшей мере 15 доменов фибронектина типа III (FN3).

35. CAR по любому из пп. 24-34, где каркас связывает антиген по меньшей мере с одной аффинностью, выбранной из K_D , меньшей или равной $10^{-9}M$, меньшей или равной $10^{-10}M$, меньшей или равной $10^{-11}M$, меньшей или равной $10^{-12}M$, меньшей или равной $10^{-13}M$, меньшей или равной $10^{-14}M$, и меньшей или равной $10^{-15}M$.

36. CAR по п.35, где K_D определяют посредством поверхностного плазмонного резонанса.

37. Композиция, содержащая CAR по любому из предшествующих пунктов и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

38. Транспозон, содержащий CAR по любому из предшествующих пунктов.

39. Транспозон по п.38, где транспозон дополнительно содержит селективный ген.

40. Транспозон по п.39, где селективный ген кодирует продукт гена, необходимый для жизнеспособности и выживания клеток.

41. Транспозон по п.39, где селективный ген кодирует продукт гена, необходимый

для жизнеспособности и выживания клеток при воздействии селективных условий культивирования клеток.

42. Транспозон по п.41, где селективные условия культивирования включают соединение, опасное для жизнеспособности или выживания клеток, и при этом продукт гена придает устойчивость к соединению.

43. Транспозон по п.39, где селективный ген включает *генneo*, DHFR (дигидрофолатредуктазы), TYMS (тимидилатсинтетазы), MGMT (O(6)-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы), множественной устойчивости к лекарственным средствам (MDR1), ALDH1 (члена A1 семейства альдегиддегидрогеназы), FRANCF, RAD51C (паралога C RAD51), GCS (глюкозилцерамидсинтазы), NKX2.2 (гомеобокса 2 NK2) или любую их комбинацию.

44. Транспозон по любому из пп. 38-43, где транспозон содержит индуцируемый полипептид каспазы, содержащий

- (a) область связывания лиганда,
- (b) линкер, и
- (c) укороченный полипептид каспазы 9,

где индуцируемый полипептид каспазы не содержит не относящуюся к человеку последовательность.

45. Транспозон по п.44, где не относящаяся к человеку последовательность представляет собой участок рестрикции.

46. Транспозон по п.44 или 45, где область связывания лиганда индуцируемого полипептида каспазы содержит полипептид связывающего FK506 белка 12 (FKBP12).

47. Транспозон по п.46, где аминокислотная последовательность полипептида связывающего FK506 белка 12 (FKBP12) содержит модификацию в положении 36 последовательности.

48. Транспозон по п.47, где модификация представляет собой замену валином (V) фенилаланина (F) в положении 36 (F36V).

49. Транспозон по любому из пп. 46-48, где полипептид FKBP12 кодирован аминокислотной последовательностью, содержащий GVQVETISPGDGRTFPKRGQTC VVHYTGMLLEDGKKVDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPD YAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO: 23).

50. Транспозон по п.49, где полипептид FKBP12 кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей

GGGGTCCAGGTCGAGACTATTTACCAGGGGATGGGCGAACATTTCCAAAAAGG
GGCCAGACTTGCGTCGTGCATTACACCGGGATGCTGGAGGACGGGAAGAAAGTGGA
CAGCTCCAGGGATCGCAACAAGCCCTTCAAGTTCATGCTGGGAAAGCAGGAAGTGA
TCCGAGGATGGGAGGAAGGCGTGGCACAGATGTACAGTCGGCCAGCGGGCCAAACT
GACCATTAGCCCTGACTACGCTTATGGAGCAACAGGCCACCCAGGGATCATTTCCC
CTCATGCCACCCTGGTCTTCGAT GTGGAAGTGTGAAGCTGGAG (SEQ ID NO: 24).

51. Транспозон по любому из пп. 44-50, где область линкера индуцируемого проапоптотического полипептида кодирована аминокислотами, содержащими GGGGS (SEQ ID NO: 25).

52. Транспозон по п.51, где область линкера индуцируемого проапоптотического полипептида кодирована последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей GGAGGAGGAGGATCC (SEQ ID NO: 26).

53. Транспозон по любому из пп. 44-52, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован аминокислотной последовательностью, которая не содержит аргинин (R) в положении 87 последовательности.

54. Транспозон по любому из пп. 44-53, где укороченный полипептид каспазы 9 из

индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован аминокислотной последовательностью, которая не содержит аланин (А) в положении 282 последовательности.

55. Транспозон по любому из пп. 44-54, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован аминокислотами, содержащими GFGDVGALESLRGNADLAYISLMEPCGHCLIINNPNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLRRRFFSSLHFMVEVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGTGDCPVSVKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPEPDATPFQEGRLRTFDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKQMPGCNFLRKKLFFKTS (SEQ ID NO: 27).

56. Транспозон по п.55, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей

TTTGGGGACGTGGGGGCCCTGGAGTCTCTGCGAGGAAATGCCGATCTGGCTTACA TCCTGAGCATGGAACCCTGCGGCCACTGTCTGATCATTAACAATGTGAACTTCTGCA GAGAAAGCGGACTGCGAACACGGACTGGCTCCAATATTGACTGTGAGAAGCTGCGG AGAAGGTTCTCTAGTCTGCACTTTATGGTCGAAGTGAAAGGGGATCTGACCGCCAA GAAAATGGTGCTGGCCCTGCTGGAGCTGGCTCAGCAGGACCATGGAGCTCTGGATT GCTGCGTGGTCGTGATCCTGTCCCACGGGTGCCAGGCTTCTCATCTGCAGTTCCCCG GAGCAGTGTACGGAACAGACGGCTGTCCTGTCAGCGTGGAGAAGATCGTCAACATC TTCAACGGCACTTCTTGCCCTAGTCTGGGGGGAAAGCCAAAAGTGTCTTTATCCAG GCCTGTGGCGGGGAACAGAAAGATCACGGCTTCGAGGTGGCCAGCACCAGCCCTGA GGACGAATCACCAGGGAGCAACCCTGAACCAGATGCAACTCCATTCCAGGAGGGAC TGAGGACCTTTGACCAGCTGGATGCTATCTCAAGCCTGCCCACTCCTAGTGACATTT TCGTGTCTTACAGTACCTTCCCAGGCTTTGTCTCATGGCGCGATCCCAAGTCAGGGA GCTGGTACGTGGAGACACTGGACGACATCTTTGAACAGTGGGCCCATTTCAGAGGAC CTGCAGAGCCTGCTGCTGCGAGTGGCAAACGCTGTCTCTGTGAAGGGCATCTACAA ACAGATGCCCGGGTGCTTCAATTTTCTGAGAAAGAAAGTGTCTTTAAGACTTCC (SEQ ID NO: 28).

57. Транспозон по любому из пп. 44-56, где индуцируемый проапоптотический полипептид кодирован аминокислотной последовательностью, содержащей

GVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLEDGKKVDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGGGSGFGDVGALESLRGNADLAYISLMEPCGHCLIINNPNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLRRRFS SLHFMVEVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCQASHLQFPGAVYGTGDCPVSVKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPEPDATPFQEGRLRTFDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKQMPGCNFLRKKLFFKTS (SEQ ID NO: 29).

58. Транспозон по п.57, где индуцируемый проапоптотический полипептид кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей

GGGGTCCAGGTCGAGACTATTTACCCAGGGGATGGGCGAACATTTCCAAAAAGG GGCCAGACTTGCGTCGTGCATTACACCGGGATGCTGGAGGACGGGAAGAAAGTGGA CAGCTCCAGGGATCGCAACAAGCCCTTCAAGTTCATGCTGGGAAAGCAGGAAGTGA TCCGAGGATGGGAGGAAGGCGTGGCACAGATGTCAGTCGGCCAGCGGGCCAACT GACCATTAGCCCTGACTACGCTTATGGAGCAACAGGCCACCCAGGGATCATTTCCC CTCATGCCACCCTGGTCTTCGATGTGGAAGTCTGTAAGCTGGAGGGAGGAGGAGGA TCCGAATTTGGGGACGTGGGGGCCCTGGAGTCTCTGCGAGGAAATGCCGATCTGGC TTACATCCTGAGCATGGAACCCTGCGGCCACTGTCTGATCATTAACAATGTGAACTT CTGCAGAGAAAGCGGACTGCGAACACGGACTGGCTCCAATATTGACTGTGAGAAGC

TGCGGAGAAGGTTCTCTAGTCTGCACTTTATGGTCGAAGTGAAAGGGGATCTGACC
GCCAAGAAAATGGTGCTGGCCCTGCTGGAGCTGGCTCAGCAGGACCATGGAGCTCT
GGATTGCTGCGTGGTTCGTGATCCTGTCCCACGGGTGCCAGGCTTCTCATCTGCAGTT
CCCCGGAGCAGTGTACGGAACAGACGGCTGTCTGTGTCAGCGTGGAGAAGATCGTCA
ACATCTTCAACGGCACTTCTTGGCCCTAGTCTGGGGGGGAAAGCCAAAAGTGTCTTTA
TCCAGGCCTGTGGCGGGGAACAGAAAGATCACGGCTTCGAGGTGGCCAGCACCAGC
CCTGAGGACGAATCACCAGGGAGCAACCCTGAACCAGATGCAACTCCATTCCAGGA
GGGACTGAGGACCTTTGACCAGCTGGATGCTATCTCAAGCCTGCCCACTCCTAGTGA
CATTTTCGTGTCTTACAGTACCTTCCCAGGCTTTGTCTCATGGCGCGATCCCAAGTCA
GGGAGCTGGTACGTGGAGACACTGGACGACATCTTTGAACAGTGGGCCCCATTGAGA
GGACCTGCAGAGCCTGCTGCTGCGAGTGGCAAACGCTGTCTCTGTGAAGGGCATCT
ACAAACAGATGCCCCGGGTGCTTCAATTTTCTGAGAAAGAAAGTGTCTTTAAGACTT
CC (SEQ ID NO: 30).

59. Транспозон по любому из пп. 38-58, где транспозон содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид.

60. Транспозон по любому из пп. 39-58, где транспозон содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид, и где саморасщепляющийся пептид локализован между CAR и селективным геном.

61. Транспозон по любому из пп. 44-60, где транспозон содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид, и где саморасщепляющийся пептид локализован между CAR и индуцируемым проапоптотическим полипептидом.

62. Транспозон по любому из пп. 44-61, где транспозон содержит по меньшей мере два саморасщепляющихся пептида, и при этом первый саморасщепляющийся пептид локализован выше индуцируемого проапоптотического полипептида, и второй саморасщепляющийся пептид локализован ниже индуцируемого проапоптотического полипептида.

63. Транспозон по любому из пп. 38-62, где транспозон содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид, и при этом первый саморасщепляющийся пептид локализован выше CAR, и второй саморасщепляющийся пептид локализован ниже CAR.

64. Транспозон по любому из пп. 59-63, где по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид содержит пептид T2A, пептид GSG-T2A, пептид E2A, пептид GSG-E2A, пептид F2A, пептид GSG-F2A, пептид P2A или пептид GSG-P2A.

65. Транспозон по п.64, где пептид T2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую egrgsltcdveenpgp (SEQ ID NO: 31).

66. Транспозон по п.64, где пептид GSG-T2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGegrgsltcdveenpgp (SEQ ID NO: 32).

67. Транспозон по п.64, где пептид E2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 34).

68. Транспозон по п.64, где пептид GSG-E2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 35).

69. Транспозон по п.64, где пептид F2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 36).

70. Транспозон по п.64, где пептид GSG-F2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 37).

71. Транспозон по п.64, где пептид P2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 38).

72. Транспозон по п.64, где пептид GSG-P2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 39).

73. Транспозон по любому из пп. 38-72, где транспозон представляет собой транспозон piggyBac.

74. Композиция, содержащая транспозон по любому из пп. 38-73.

75. Композиция по п.74, дополнительно содержащая плазмиду, содержащую последовательность, кодирующую фермент транспозазу.

76. Композиция по п.75, где последовательность, кодирующая фермент транспозазу, представляет собой последовательность мРНК.

77. Композиция по любому из пп. 74-76, где транспозаза представляет собой транспозазу piggyBac.

78. Композиция по п.77, где транспозаза piggyBac содержит аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 12.

79. Композиция по п.77 или 78, где транспозаза piggyBac представляет собой гиперактивный вариант, и где гиперактивный вариант содержит замену аминокислоты в одном или более из положений 30, 165, 282 и 538 из SEQ ID NO: 12.

80. Композиция по п.79, где замена аминокислоты в положении 30 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену валином (V) изолейцина (I) (I30V).

81. Композиция по п.79, где замена аминокислоты в положении 165 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену серином (S) глицина (G) (G165S).

82. Композиция по п.79, где замена аминокислоты в положении 282 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену валином (V) метионина (M) (M282V).

83. Композиция по п.79, где замена аминокислоты в положении 538 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену лизином (K) аспарагина (N) (N538K).

84. Композиция по любому из пп. 77-83, где транспозаза представляет собой транспозаза Super piggyBac (sPBo).

85. Композиция по п.84, где транспозаза Super piggyBac (sPBo) содержит аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 2.

86. Вектор, содержащий CAR по любому из пп. 1-36.

87. Вектор по п.86, где вектор представляет собой вирусный вектор.

88. Вектор по п.87, где вирусный вектор содержит последовательность, выделенную или происходящую из ретровируса, лентивируса, аденовируса, аденоассоциированного вируса или любой их комбинации.

89. Вектор по п.87 или 88, где вирусный вектор содержит последовательность, выделенную или происходящую из аденоассоциированного вируса.

90. Вектор по любому из пп. 87-89, где вирусный вектор представляет собой рекомбинантный вектор.

91. Вектор по п.86, где вектор представляет собой вектор на основе наночастиц.

92. Вектор по п.91, где вектор на основе наночастиц содержит нуклеиновую кислоту, аминокислоту, полимеры, мицеллу, липид, органическую молекулу, неорганическую молекулу или любую их комбинацию.

93. Вектор по любому из пп. 86-92, где вектор дополнительно содержит селективный ген.

94. Вектор по п.93, где селективный ген кодирует продукт гена, необходимый для жизнеспособности и выживания клеток.

95. Вектор по п.93, где селективный ген кодирует продукт гена, необходимый для жизнеспособности и выживания клеток при воздействии селективных условий культивирования клеток.

96. Вектор по п.95, где селективные условия культивирования клеток включают соединение, опасное для жизнеспособности или выживания клеток, и где продукт гена придает устойчивость к соединению.

97. Вектор по любому из пп. 93-96, где селективный ген включает *генneo*, DHFR

(дигидрофолатредуктазы), TYMS (тимидилатсинтетазы), MGMT (O(6)-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы), множественной устойчивости к лекарственным средствам (MDR1), ALDH1 (члена A1 семейства альдегиддегидрогеназы), FRACF, RAD51C (паралога C RAD51), GCS (глюкозилцерамидсинтазы), NKX2.2 (гомеобокса 2 NK2) или любую их комбинацию.

98. Вектор по любому из пп. 86-97, где вектор содержит индуцируемый полипептид каспазы, содержащий

- (a) область связывания лиганда,
- (b) линкер, и
- (c) укороченный полипептид каспазы 9,

где индуцируемый полипептид каспазы не содержит не относящуюся к человеку последовательность.

99. Вектор по п.98, где не относящаяся к человеку последовательность представляет собой участок рестрикции.

100. Вектор по п.98 или 99, где область связывания лиганда индуцируемый полипептид каспазы содержит полипептид связывающего FK506 белка 12 (FKBP12).

101. Вектор по п.100, где аминокислотная последовательность полипептида связывающего FK506 белка 12 (FKBP12) содержит модификацию в положении 36 последовательности.

102. Вектор по п.101, где модификация представляет собой замену валином (V) фенилаланина (F) в положении 36 (F36V).

103. Вектор по любому из пп. 100-102, где полипептид FKBP12 кодирован аминокислотной последовательностью, содержащей GVQVETISPGDGRTPKRGQTCV VHYTGMLEDGKKVDSSDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLITSPDY AYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (SEQ ID NO: 23).

104. Вектор по п.103, где полипептид FKBP12 кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей

GGGGTCCAGGTCGAGACTATTTACACAGGGGATGGGCGAACATTTCCAAAAAGG
GGCCAGACTTGCGTCGTGCATTACACCGGGATGCTGGAGGACGGGAAGAAAGTGGA
CAGCTCCAGGGATCGCAACAAGCCCTTCAAGTTCATGCTGGGAAAGCAGGAAGTGA
TCCGAGGATGGGAGGAAGGCGTGGCACAGATGTCAGTCGGCCAGCGGGCCAACT
GACCATTAGCCCTGACTACGCTTATGGAGCAACAGGCCACCCAGGGATCATTTCCC
CTCATGCCACCCTGGTCTTCGAT GTGGAAGTCTGAAGCTGGAG (SEQ ID NO: 24).

105. Вектор по любому из пп. 98-104, где область линкера индуцируемого проапоптотического полипептида кодирована аминокислотами, содержащими GGGGS (SEQ ID NO: 25).

106. Вектор по п.105, где область линкера индуцируемого проапоптотического полипептида кодирована последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей GGAGGAGGAGGATCC (SEQ ID NO: 26).

107. Вектор по любому из пп. 98-106, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован аминокислотной последовательностью, которая не содержит аргинин (R) в положении 87 последовательности.

108. Вектор по любому из пп. 98-107, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован аминокислотной последовательностью, которая не содержит аланин (A) в положении 282 последовательности.

109. Вектор по любому из пп. 98-108, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован аминокислотами, содержащими GFGDVGALESLRGNADLAYISLMEPCGHCLINNPNFCRESGLRTRTGSN

IDCEKLRRRFSSLHFMVEVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCCQAS
HLQFPGAVYGTGDCPVSVVEKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTS
PEDESPGSNPEPDATPFQEGLRFTDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWY
VETLDDIFEQWAHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKQMPGCNFLRKKLFFKTS (SEQ ID
NO: 27).

110. Вектор по п.109, где укороченный полипептид каспазы 9 из индуцируемого проапоптотического полипептида кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей

TTTGGGGACGTGGGGGCCCTGGAGTCTCTGCGAGGAAATGCCGATCTGGCTTACA
TCCTGAGCATGGAACCCTGCGGCCACTGTCTGATCATTAAACAATGTGAACCTTCTGCA
GAGAAAGCGGACTGCGAACACGGACTGGCTCCAATATTGACTGTGAGAAGCTGCGG
AGAAGGTTCTCTAGTCTGCACTTTATGGTCGAAGTGAAAGGGGATCTGACCGCCAA
GAAAATGGTGCTGGCCCTGCTGGAGCTGGCTCAGCAGGACCATGGAGCTCTGGATT
GCTGCGTGGTCGTGATCCTGTCCCACGGGTGCCAGGCTTCTCATCTGCAGTTCCCCG
GAGCAGTGTACGGAACAGACGGCTGTCCTGTCAGCGTGGAGAAGATCGTCAACATC
TTCAACGGCACTTCTTGCCCTAGTCTGGGGGGAAAGCCAAAACCTGTTCTTTATCCAG
GCCTGTGGCGGGGAACAGAAAGATCACGGCTTCGAGGTGGCCAGCACCAGCCCTGA
GGACGAATCACCAGGGAGCAACCCTGAACCAGATGCAACTCCATTCCAGGAGGGAC
TGAGGACCTTTGACCAGCTGGATGCTATCTCAAGCCTGCCCACTCCTAGTGACATTT
TCGTGTCTTACAGTACCTTCCCAGGCTTTGTCTCATGGCGCGATCCCAAGTCAGGGA
GCTGGTACGTGGAGACACTGGACGACATCTTTGAACAGTGGGCCCATTTCAGAGGAC
CTGCAGAGCCTGCTGCTGCGAGTGGCAAACGCTGTCTCTGTGAAGGGCATCTACAA
ACAGATGCCCCGGGTGCTTCAATTTTCTGAGAAAGAAACTGTTCTTTAAGACTTCC
(SEQ ID NO: 28).

111. Вектор по любому из пп. 98-110, где индуцируемый проапоптотический полипептид кодирован аминокислотной последовательностью, содержащей

GVQVETISPGDGRTPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKVDSSRDRNKPFFKMLGKQVEI
RGWEEGVAQMSVGQRAKLITSPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGGGGSG
FGDVGALESRLGNADLAYISLMEPCGHCLIINNBNFCRESGLRTRTGSNIDCEKLRRRFS
SLHFMVEVKGDLTAKKMVLALLELAQQDHGALDCCVVVILSHGCCQASHLQFPGAVYG
TDGCPVSVVEKIVNIFNGTSCPSLGGKPKLFFIQACGGEQKDHGFEVASTSPEDESPGSNPE
PDATPFQEGLRFTDQLDAISSLPTPSDIFVSYSTFPGFVSWRDPKSGSWYVETLDDIFEQW
AHSEDLQSLLLRVANAVSVKGIYKQMPGCNFLRKKLFFKTS (SEQ ID NO: 29).

112. Вектор по п.111, где индуцируемый проапоптотический полипептид кодирован последовательностью нуклеиновой кислоты, содержащей

GGGGTCCAGGTCGAGACTATTTACCAGGGGATGGGCGAACATTTCCAAAAAGG
GGCCAGACTTGCGTCGTGCATTACACCGGGATGCTGGAGGACGGGAAGAAAGTGGA
CAGCTCCAGGGATCGCAACAAGCCCTTCAAGTTCATGCTGGGAAAGCAGGAAGTGA
TCCGAGGATGGGAGGAAGGCGTGGCACAGATGTCAGTCGGCCAGCGGGCCAAACT
GACCATTAGCCCTGACTACGCTTATGGAGCAACAGGCCACCCAGGGATCATTTCCC
CTCATGCCACCCTGGTCTTCGATGTGGAAGTCTGAAGCTGGAGGGAGGAGGAGGA
TCCGAATTTGGGGACGTGGGGGCCCTGGAGTCTCTGCGAGGAAATGCCGATCTGGC
TTACATCCTGAGCATGGAACCCTGCGGCCACTGTCTGATCATTAAACAATGTGAACCT
CTGCAGAGAAAGCGGACTGCGAACACGGACTGGCTCCAATATTGACTGTGAGAAGC
TGCGGAGAAGGTTCTCTAGTCTGCACTTTATGGTCGAAGTGAAAGGGGATCTGACC
GCCAAGAAAATGGTGCTGGCCCTGCTGGAGCTGGCTCAGCAGGACCATGGAGCTCT
GGATTGCTGCGTGGTCGTGATCCTGTCCCACGGGTGCCAGGCTTCTCATCTGCAGTT
CCCCGGAGCAGTGTACGGAACAGACGGCTGTCCTGTCAGCGTGGAGAAGATCGTCA
ACATCTTCAACGGCACTTCTTGCCCTAGTCTGGGGGGAAAGCCAAAACCTGTTCTTTA
TCCAGGCCTGTGGCGGGGAACAGAAAGATCACGGCTTCGAGGTGGCCAGCACCAGC

CCTGAGGACGAATCACCAGGGAGCAACCCTGAACCAGATGCAACTCCATTCCAGGA
GGGACTGAGGACCTTTGACCAGCTGGATGCTATCTCAAGCCTGCCCCACTCCTAGTGA
CATTTTCGTGTCTTACAGTACCTTCCCAGGCTTTGTCTCATGGCGCGATCCCAAGTCA
GGGAGCTGGTACGTGGAGACACTGGACGACATCTTTGAACAGTGGGCCCCATTTCAGA
GGACCTGCAGAGCCTGCTGCTGCGAGTGGCAAACGCTGTCTCTGTGAAGGGCATCT
ACAAACAGATGCCCCGGGTGCTTCAATTTTCTGAGAAAGAACTGTTCTTTAAGACTT
CC (SEQ ID NO: 30).

113. Вектор по любому из пп. 86-112, где вектор содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид.

114. Вектор по любому из пп. 86-112, где вектор содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид, и где саморасщепляющийся пептид локализован между CAR и селективным геном.

115. Вектор по любому из пп. 98-114, где транспозон содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид, и где саморасщепляющийся пептид локализован между CAR и индуцируемым проапоптотическим полипептидом.

116. Вектор по любому из пп. 98-115, где транспозон содержит по меньшей мере два саморасщепляющихся пептида, и при этом первый саморасщепляющийся пептид локализован выше индуцируемого проапоптотического полипептида, и второй саморасщепляющийся пептид локализован ниже индуцируемого проапоптотического полипептида.

117. Вектор по любому из пп. 86-116, где вектор содержит по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид, и при этом первый саморасщепляющийся пептид локализован выше CAR и а второй саморасщепляющийся пептид локализован ниже CAR.

118. Вектор по любому из пп. 113-117, где по меньшей мере один саморасщепляющийся пептид содержит пептид T2A, пептид GSG-T2A, пептид E2A, пептид GSG-E2A, пептид F2A, пептид GSG-F2A, пептид P2A или пептид GSG-P2A.

119. Вектор по п.118, где пептид T2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую egrgslitcgdveenpgp (SEQ ID NO: 31).

120. Вектор по п.118, где пептид GSG-T2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGegrgslitcgdveenpgp (SEQ ID NO: 32).

121. Вектор по п.118, где пептид E2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 34).

122. Вектор по п.118, где пептид GSG-E2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 35).

123. Вектор по п.118, где пептид F2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 36).

124. Вектор по п.118, где пептид GSG-F2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 37).

125. Вектор по п.118, где пептид P2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 38).

126. Вектор по п.118, где пептид GSG-P2A содержит аминокислотную последовательность, содержащую GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 39).

127. Композиция, содержащая вектор по любому из пп. 86-126.

128. Клетка, содержащая CAR по любому из пп. 1-36.

129. Клетка, содержащая транспозон или транспозазу по любому из пп. 38-85.

130. Клетка, содержащая вектор по любому из пп. 86-126.

131. Клетка по любому из пп. 128-130, где клетка экспрессирует CAR на поверхности клетки.

132. Клетка по любому из пп. 128-131, где клетка представляет собой иммуноцит.
133. Клетка по п.132, где иммуноцит представляет собой Т-клетку, клетку естественного киллера (NK), подобную естественному киллеру (NK) клетку (например, индуцируемую цитокинами клетку-киллера (CIK)), гематопоезическую клетку-предшественника, полученную из периферической крови (PB) Т-клетку или полученную из пуповинной крови (UCB) Т-клетку.
134. Клетка по п.132, где иммуноцит представляет собой Т-клетку.
135. Клетка по любому из пп. 128-131, где клетка представляет собой искусственную антигенпредставляющую клетку.
136. Клетка по любому из пп. 128-131, где клетка представляет собой клетку опухоли.
137. Клетка по любому из пп. 118-136, где клетка является аутологичной.
138. Клетка по любому из пп. 118-136, где клетка является аллогенной.
139. Композиция, содержащая клетку по любому из пп. 128-138.
140. Способ экспрессии химерного рецептора антигена (CAR) на поверхности клетки, включающий:
 - (a) получение популяции клеток;
 - (b) приведение популяции клеток в контакт с композицией, содержащей CAR по любому из пп. 1-36, или с последовательностью, кодирующей CAR, в условиях, подходящих для переноса CAR через клеточную мембрану по меньшей мере одной клетки в популяции клеток, таким образом, получение популяции модифицированных клеток;
 - (c) культивирование популяции модифицированных клеток в условиях, подходящих для интеграции CAR;
 - (d) размножение и/или отбор по меньшей мере одной клетки из популяции модифицированных клеток, экспрессирующей CAR на поверхности клетки.
141. Способ по п.140, где популяция клеток содержит лейкоциты.
142. Способ по п.141, где популяция клеток содержит CD4+ и CD8+ лейкоциты в оптимизированном соотношении.
143. Способ по п.142, где оптимизированное соотношение CD4+ и CD8+ лейкоцитов не встречается в природе *in vivo*.
144. Способ по п.140, где транспозон или вектор содержит CAR или последовательность, кодирующую CAR.
145. Способ по п.140, где транспозон по любому из пп. 38-73 содержит CAR или последовательность, кодирующую CAR.
146. Способ по п.144 или 145, где транспозон содержит транспозон piggyBac.
147. Способ по п.146, дополнительно включающий композицию, содержащую плазмиду, содержащую последовательность, кодирующую фермент транспозазу.
148. Способ по п.147, где последовательность, кодирующая фермент транспозазу, представляет собой последовательность мРНК.
149. Способ по любому из пп. 147 или 148, где транспозаза представляет собой транспозаза piggyBac.
150. Способ по п.149, где транспозаза piggyBac содержит аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 12.
151. Способ по п.149 или 150, где транспозаза piggyBac представляет собой гиперактивный вариант, и где гиперактивный вариант содержит замену аминокислоты в одном или более из положений 30, 165, 282 и 538 из SEQ ID NO: 12.
152. Способ по п.151, где замена аминокислоты в положении 30 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену валином (V) изолейцином (I) (I30V).
153. Способ по п.151, где замена аминокислоты в положении 165 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену серином (S) глицином (G) (G165S).

154. Способ по п.151, где замена аминокислоты в положении 282 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену валином (V) метионина (M) (M282V).

155. Способ по п.151, где замена аминокислоты в положении 538 из SEQ ID NO: 12 представляет собой замену лизином (K) аспарагина (N) (N538K).

156. Способ по любому из пп. 149-155, где транспозаза представляет собой транспозазу Super piggyBac (sPBo).

157. Способ по п.156, где транспозаза Super piggyBac (sPBo) содержит аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 2.

158. Способ по п.140, где вектор по любому из пп. 76-116 содержит CAR или последовательность, кодирующую CAR.

159. Способ по п.140, 144, 145 или 158, где условия, подходящие для переноса последовательности, кодирующей CAR, через клеточную мембрану по меньшей мере одной клетки в популяции клеток, включают нуклеофекцию.

160. Способ по любому из пп. 140-158, где условия, подходящие для переноса последовательности, кодирующей CAR, через клеточную мембрану по меньшей мере одной клетки в популяции клеток, из (b) включают по меньшей мере одно из применений одного или более импульсов электричества указанного напряжения, буфера и одного или более вспомогательного фактора(факторов).

161. Способ по п.160, где буфер включает PBS, HBSS, OptiMEM, BTXpress, Амаха Nucleofector, буфер для нуклеофекции Т-клеток человека или любую их комбинацию.

162. Способ по п.160 или 161, где один или более вспомогательный фактор(ы) включает

(a) рекомбинантный человеческий цитокин, хемокин, интерлейкин или любую их комбинацию;

(b) соль, минерал, метаболит или любую их комбинацию;

(c) среду для клеток;

(d) ингибитор разрывов клеточной ДНК, метаболизма, дифференцировки, передачи сигнала, одного или более апоптотического пути(путей) или их комбинации; и

(e) реагент, модифицирующий или стабилизирующий одну или более нуклеиновых кислот.

163. Способ по п.162, где рекомбинантный человеческий цитокин, хемокин, интерлейкин или любая их комбинация включает IL2, IL7, IL12, IL15, IL21, IL1, IL3, IL4, IL5, IL6, IL8, CXCL8, IL9, IL10, IL11, IL13, IL14, IL16, IL17, IL18, IL19, IL20, IL22, IL23, IL25, IL26, IL27, IL28, IL29, IL30, IL31, IL32, IL33, IL35, IL36, GM-CSF, IFN-гамма, IL-1-альфа/IL-1F1, IL-1-бета/IL-1F2, IL-12 p70, IL-12/IL-35 p35, IL-13, IL-17/IL-17A, гетеродимер IL-17A/F, IL-17F, IL-18/IL-1F4, IL-23, IL-24, IL-32, IL-32-бета, IL-32-гамма, IL-33, LAP (TGF-бета 1), лимфотоксин-альфа/TNF-бета, TGF-бета, TNF-альфа, TRANCE/TNFSF11/RANK L или любую их комбинацию.

164. Способ по п.162, где соль, минерал, метаболит или любая их комбинация включает HEPES, никотинамид, гепарин, пируват натрия, L-глутамин, раствор заменимых аминокислот MEM, аскорбиновую кислоту, нуклеозиды, FBS/FCS, сыворотку человека, заменитель сыворотки, антибиотики, средства для доведения pH, соли Эрла, 2-меркаптоэтанол, трансферрин человека, рекомбинантный инсулин человека, человеческий сывороточный альбумин, добавку Nucleofector PLUS, KCL, MgCl2, Na2HPO4, NaH2PO4, лактобионат натрия, манитол, сукцинат натрия, хлорид натрия, C1Na, глюкозу, Ca(NO3)2, трис/HCl, K2HPO4, KH2PO4, полиэтиленмин, полиэтиленгликоль, полуксамер 188, полуксамер 181, полуксамер 407, поливинилпирролидон, Por313, Crown-5 или любую их комбинацию.

165. Способ по п.162, где среда для клеток включает PBS, HBSS, OptiMEM, DMEM, RPMI 1640, AIM-V, X-VIVO 15, среду CellGro DC, CTS OpTimizer T Cell Expansion SFM,

среду TechMACS, среду для размножения Т-клеток PRIME-XV, среду для размножения Т-клеток ImmunoCult-XF или любую их комбинацию.

166. Способ по п.162, где ингибитор разрывов клеточной ДНК, метаболизма, дифференцировки, передачи сигнала, одного или более апоптотического пути(путей) или их комбинации включает ингибиторы TLR9, MyD88, IRAK, TRAF6, TRAF3, IRF-7, NF-KB, интерферонов типа 1, провоспалительных цитокинов, cGAS, STING, Sec5, TBK1, IRF-3, РНК-полимеразы III, RIG-1, IPS-1, FADD, RIP1, TRAF3, AIM2, ASC, каспазы 1, Pro-IL1B, PI3K, Akt, Wnt3A, киназы-3 β гликогенсинтазы (GSK-3 β), TWS119, бафиломицин, хлороквин, хинакрин, AC-YVAD-CMK, Z-VAD-FMK, Z-IETD-FMK или любую их комбинацию.

167. Способ по п.162, где реагент, модифицирующий или стабилизирующий одну или более нуклеиновых кислот, включает модификатор pH, связывающий ДНК белок, липид, фосфолипид, CaPO₄, связывающий ДНК пептид с суммарным нейтральным зарядом, с наличием или отсутствием последовательности NLS, фермент TREX1 или любую их комбинацию.

168. Способ по любому из пп. 140-158, где условия, подходящие для интеграции CAR или последовательности, кодирующей CAR, включают по меньшей мере один из буфера и одного или более вспомогательного фактора(факторов).

169. Способ по п.168, где буфер включает PBS, HBSS, OptiMEM, BTXpress, Амаха Nucleofector, буфер для нуклеофекции Т-клеток человека или любую их комбинацию.

170. Способ по п.168 или 169, где один или более вспомогательный фактор(ы) включает

(a) рекомбинантный человеческий цитокин, хемокин, интерлейкин или любую их комбинацию;

(b) соль, минерал, метаболит или любую их комбинацию;

(c) среду для клеток;

(d) ингибитор разрывов клеточной ДНК, метаболизма, дифференцировки, передачи сигнала, одного или более апоптотического пути(путей) или их комбинации; и

(e) реагент, модифицирующий или стабилизирующий одну или более нуклеиновых кислот.

171. Способ по п.170, где рекомбинантный человеческий цитокин, хемокин, интерлейкин или любая их комбинация включает IL2, IL7, IL12, IL15, IL21, IL1, IL3, IL4, IL5, IL6, IL8, CXCL8, IL9, IL10, IL11, IL13, IL14, IL16, IL17, IL18, IL19, IL20, IL22, IL23, IL25, IL26, IL27, IL28, IL29, IL30, IL31, IL32, IL33, IL35, IL36, GM-CSF, IFN-гамма, IL-1-альфа/IL-1F1, IL-1-бета/IL-1F2, IL-12 p70, IL-12/IL-35 p35, IL-13, IL-17/IL-17A, гетеродимер IL-17A/F, IL-17F, IL-18/IL-1F4, IL-23, IL-24, IL-32, IL-32-бета, IL-32-гамма, IL-33, LAP (TGF-бета 1), лимфотоксин-альфа/TNF-бета, TGF-бета, TNF-альфа, TRANCE/TNFSF11/RANK L или любую их комбинацию.

172. Способ по п.170, где соль, минерал, метаболит или любая их комбинация включает HEPES, никотинамид, гепарин, пируват натрия, L-глутамин, раствор заменимых аминокислот MEM, аскорбиновую кислоту, нуклеозиды, FBS/FCS, сыворотку человека, заменитель сыворотки, антибиотики, средства для доведения pH, соли Эрла, 2-меркаптоэтанол, трансферрин человека, рекомбинантный инсулин человека, человеческий сывороточный альбумин, добавку Nucleofector PLUS, KCL, MgCl₂, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, лактобионат натрия, манитол, сукцинат натрия, хлорид натрия, C1Na, глюкозу, Ca(NO₃)₂, трис/HCl, K₂HPO₄, KH₂PO₄, полиэтиленмин, полиэтиленгликоль, полуксамер 188, полуксамер 181, полуксамер 407, поливинилпирролидон, Por313, Crown-5 или любую их комбинацию.

173. Способ по п.170, где среда для клеток включает PBS, HBSS, OptiMEM, DMEM, RPMI 1640, AIM-V, X-VIVO 15, среду CellGro DC, CTS OpTimizer T Cell Expansion SFM,

среду TexMACS, среду для размножения Т-клеток PRIME-XV, среду для размножения Т-клеток ImmunoCult-XF или любую их комбинацию.

174. Способ по п.170, где ингибитор разрывов клеточной ДНК, метаболизма, дифференцировки, передачи сигнала, одного или более апоптотического пути(путей) или их комбинации включает ингибиторы TLR9, MyD88, IRAK, TRAF6, TRAF3, IRF-7, NF-KB, интерферонов типа 1, провоспалительных цитокинов, cGAS, STING, Sec5, TBK1, IRF-3, РНК-полимеразы III, RIG-1, IPS-1, FADD, RIP1, TRAF3, AIM2, ASC, каспазы 1, Pro-IL1B, PI3K, Akt, Wnt3A, киназы-3 β гликогенсинтазы (GSK-3 β), TWS119, бафиломицин, хлороквин, хинакрин, AC-YVAD-CMK, Z-VAD-FMK, Z-IETD-FMK или любую их комбинацию.

175. Способ по п.170, где реагент, модифицирующий или стабилизирующий одну или более нуклеиновых кислот, включает модификатор pH, связывающий ДНК белок, липид, фосфолипид, CaPO₄, связывающий ДНК пептид с суммарным нейтральным зарядом, с наличием или отсутствием последовательности NLS, фермент TREX1 или любую их комбинацию.

176. Способ по любому из пп. 140-175, где размножение и отбор из (d) проводят последовательно.

177. Способ по п.176, где размножение проводят до отбора.

178. Способ по п.176, где размножение проводят после отбора.

179. Способ по п.178, где дополнительный отбор проводят после размножения.

180. Способ по любому из пп. 140-175, где размножение и отбор из (d) проводят одновременно.

181. Способ по любому из пп. 140-180, где размножение включает приведение по меньшей мере одной клетки из популяции модифицированных клеток в контакт с антигеном для стимуляции по меньшей мере одной клетки посредством CAR.

182. Способ по п.181, где антиген представлен на поверхности субстрата.

183. Способ по п.182, где субстрат представляет собой бусину или множество бусин.

184. Способ по п.183, где бусину или множество бусин отделяют от популяции модифицированных клеток после размножения.

185. Способ по п.181, где антиген представлен на поверхности клетки.

186. Способ по п.185, где антиген представлен на поверхности искусственной антигенпредставляющей клетки.

187. Способ по любому из пп. 140-186, где транспозон или вектор содержит селективный ген, и где стадия отбора включает приведение по меньшей мере одной клетки из популяции модифицированных клеток в контакт с соединением, устойчивость к которому придает селективный ген, таким образом, идентификацию клетки, экспрессирующей селективный ген, как пережившей отбор, и идентификацию клетки, потерпевшей неудачу в экспрессии селективного гена, как клетки, потерпевшей неудачу в выживании на стадии отбора.

188. Способ по любому из пп. 140-187, где стадии размножения и отбора продолжаются в течение периода 10-14 суток, включая конечные точки.

189. Композиция, содержащая размноженную и отобранную популяцию клеток по любому из пп. 140-188.

190. Способ лечения злокачественной опухоли у нуждающегося в этом субъекта, включает введение субъекту композиции по любому из пп. 37, 74-85, 127, 139 или 189, где CAR специфически связывается с антигеном на клетке опухоли.

191. Способ по п.190, где клетка опухоли представляет собой злокачественную клетку опухоли.

192. Способ по п.190 или 191, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аутологичной.

193. Способ по п.190 или 191, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аллогенной.

194. Способ лечения аутоиммунного состояния у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции по любому из пп. 37, 74-85, 127, 139 или 189, где CAR специфически связывается с антигеном на аутоиммунноците субъекта.

195. Способ по п.194, где аутоиммунцит представляет собой лимфоцит, который специфически связывается с собственным антигеном на клетке-мишени субъекта.

196. Способ по п.194 или 195, где аутоиммунцит представляет собой В-лимфоцит.

197. Способ по п.194 или 195, где аутоиммунцит представляет собой Т-лимфоцит.

198. Способ по любому из пп. 194-197, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аутологичной.

199. Способ по любому из пп. 194-197, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аллогенной.

200. Способ лечения или предотвращения инфекции у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции по любому из пп. 37, 74-85, 127, 139 или 189, где CAR специфически связывается с антигеном на клетке, содержащей инфекционный агент, клетке, контактирующей с инфекционным агентом, или клетке, подвергнутой воздействию инфекционного агента.

201. Способ по п.200, где инфекционный агент представляет собой бактерию, вирус, дрожжи или микроорганизм.

202. Способ по п.200 или 201, где инфекционный агент может индуцировать одно или более из инфекции, состояния иммунодефицита, воспалительного состояния и пролиферативного нарушения.

203. Способ по п.202, где инфекция вызывает туберкулез, микроэнцефалию, нейродегенерацию или малярию.

204. Способ по п.202 или 203, где инфекция вызывает микроэнцефалию у плода субъекта.

205. Способ по п.204, где инфекционный агент представляет собой вирус, и при этом вирус представляет собой вирус Зика.

206. Способ по п.202, где состояние иммунодефицита представляет собой синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД).

207. Способ по п.202, где пролиферативное нарушение представляет собой злокачественную опухоль.

208. Способ по п.207, где злокачественная опухоль представляет собой рак шейки матки, и при этом инфекционный агент представляет собой вирус папилломы человека (HPV).

209. Способ по любому из пп. 200-208, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аутологичной.

210. Способ по любому из пп. 200-208, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аллогенной.

211. Способ лечения заболевания тучных клеток у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции по любому из пп. 37, 74-85, 127, 139 или 189, где CAR специфически связывается с антигеном на тучной клетке.

212. Способ по п.211, где заболевание тучных клеток представляет собой нарушение, ассоциированное с избыточной пролиферацией тучных клеток.

213. Способ по п.212, где заболевание тучных клеток представляет собой мастоцитоз.

214. Способ по п.213, где заболевание тучных клеток представляет собой нарушение, ассоциированное с аномальной активностью тучных клеток.

215. Способ по п.214, где заболевание тучных клеток представляет собой синдром активации тучных клеток (MCAS) или нарушение активации тучных клеток (MCAD),

аллергическое заболевание (включая анафилаксию), астму или воспалительное заболевание.

216. Способ по любому из пп. 211-216, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аутологичной.

217. Способ по любому из пп. 211-216, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аллогенной.

218. Способ лечения дегенеративного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции по любому из пп. 37, 74-85, 127, 139 или 189, где CAR специфически связывается с антигеном на оказывающей вредное воздействие клетке или стареющей клетке.

219. Способ по п.218, где дегенеративное заболевание представляет собой нейродегенеративное нарушение, нарушение метаболизма, сосудистое нарушение или старение.

220. Способ по п.218 или 219, где дегенеративное заболевание представляет собой нейродегенеративное нарушение, и где представляющая опасность клетка или стареющая клетка представляет собой стволовую клетку, иммуноцит, нейрон, глию или микроглию.

221. Способ по п.218 или 219, где дегенеративное заболевание представляет собой нарушение метаболизма, и где представляющая опасность клетка или стареющая клетка представляет собой стволовую клетку, соматическую клетку, нейрон, глию или микроглию.

222. Способ по п.218 или 219, где дегенеративное заболевание представляет собой сосудистое нарушение, и где представляющая опасность клетка или стареющая клетка представляет собой стволовую клетку, соматическую клетку, иммуноцит, эндотелиальную клетку, нейрон, глию или микроглию.

223. Способ по п.218 или 219, где дегенеративное заболевание представляет собой старение, и где представляющая опасность клетка или стареющая клетка представляет собой яйцеклетку, сперматозоид, стволовую клетку, соматическую клетку, иммуноцит, эндотелиальную клетку, нейрон, глию или микроглию.

224. Способ по любому из пп. 218-223, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аутологичной.

225. Способ по любому из пп. 218-223, включающий введение субъекту композиции по п.139 или 185, где клетка или популяция клеток является аллогенной.

226. Способ модификации клеточной терапии для нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции, содержащей клетку, содержащую транспозон по любому из пп. 38-73, где апоптоз можно избирательным образом индуцировать в клетке посредством приведения клетки в контакт с индуцирующим средством.

227. Способ модификации клеточной терапии для нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции, содержащей клетку, содержащую вектор по любому из пп. 86-126, где апоптоз можно избирательным образом индуцировать в клетке посредством приведения клетки в контакт с индуцирующим средством.

228. Способ по п.226 или 227, где клетка является аутологичной.

229. Способ по п.226 или 227, где клетка является аллогенной.

230. Способ по любому из пп. 226-229, где клеточная терапия представляет собой адоптивную клеточную терапию.

231. Способ по любому из пп. 226-230, где модификация представляет собой остановку клеточной терапии.

232. Способ по любому из пп. 226-230, где модификация представляет собой истощение части клеток, предоставленных для клеточной терапии.

233. Способ по любому из пп. 226-232, дополнительно включающий стадию введения

ингибитора индуцирующего средства для ингибирования модификации клеточной терапии, таким образом, восстановления функции и/или эффективности клеточной терапии.

RU 2019104074 A

A 4204016102 RU