

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

(21)(22) Заявка: 2018140056, 14.04.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
15.04.2016 US 62/322,937

(43) Дата публикации заявки: 15.05.2020 Бюл. № 14

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 15.11.2018(86) Заявка РСТ:  
US 2017/027754 (14.04.2017)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2017/181101 (19.10.2017)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,  
ООО "Юридическая фирма Городиский и  
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**ДЗЕ ТРАСТИЗ ОФ ДЗЕ ЮНИВЕРСИТИ  
ОФ ПЕНСИЛЬВАНИЯ (US),  
ДЗЕ ЧИЛДРЕН'З ХОСПИТАЛ ОФ  
ФИЛАДЕЛЬФИЯ (US)**

(72) Автор(ы):

**МАЙЛОН, Майкл К. (US),  
АРРУДА, Валдер (US),  
РИЧМАН, Сара (US),  
СЕЙМЕЛСОН-ДЖОУНЗ, Бенджамин (US)**(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ Т-КЛЕТОК С ХИМЕРНЫМ  
РЕЦЕПТОРОМ АЛЛОАНТИГЕНА**

## (57) Формула изобретения

1. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерный рецептор аллоантигена (CALLAR),  
где выделенная последовательность нуклеиновой кислоты содержит  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аллоантиген или его фрагмент,  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую трансмембранный домен,  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB, и  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую сигнальный домен CD3-зета.
2. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерный рецептор аллоантигена (CALLAR),  
где выделенная последовательность нуклеиновой кислоты содержит  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую субъединицу A2 фактора VIII,  
последовательность нуклеиновой кислоты трансмембранного домена,  
последовательность нуклеиновой кислоты внутриклеточного домена костимулирующей молекулы и

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен.

3. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по п. 1, где аллоантиген представляет собой фактор VIII или его фрагмент.

4. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по п. 3, где фактор VIII или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:2 и SEQ ID NO:4.

5. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по п. 3, где фрагмент фактора VIII выбран из группы, состоящей из субъединицы A2 или субъединицы C2 фактора VIII.

6. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1 или 2, где последовательность нуклеиновой кислоты трансмембранного домена кодирует шарнирную область альфа-цепи CD8 и трансмембранный домен.

7. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по п. 6, где шарнирная область альфа-цепи CD8 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7 и

трансмембранный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8.

8. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по п. 2, где последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая внутриклеточный домен костимулирующей молекулы, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую сигнальный домен 4-1BB.

9. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1 или 8, где внутриклеточный домен 4-1BB содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10.

10. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по п. 2, где последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая внутриклеточный сигнальный домен, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую сигнальный домен CD3-зета.

11. Выделенная последовательность нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1 или 10, где сигнальный домен CD3-зета содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12.

12. Вектор, содержащий выделенную последовательность нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-11.

13. Вектор по п. 12, где вектор представляет собой лентивирусный вектор.

14. Вектор по п. 12, где вектор представляет собой РНК-вектор.

15. Выделенный химерный рецептор аллоантигена (CALLAR), содержащий внеклеточный домен, содержащий аллоантиген или его фрагмент, трансмембранный домен, внутриклеточный домен 4-1BB и сигнальный домен CD3-зета.

16. Выделенный химерный рецептор аллоантигена (CALLAR), содержащий внеклеточный домен, содержащий субъединицу A2 фактора VIII, трансмембранный домен, внутриклеточный домен костимулирующей молекулы и внутриклеточный сигнальный домен.

17. Выделенный CALLAR по п. 15, где аллоантиген представляет собой фактор VIII или его фрагмент.

18. Выделенный CALLAR по п. 15, где фактор VIII или его фрагмент содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID

NO:2 и SEQ ID NO:4.

19. Выделенный CALLAR по п. 17, где фрагмент фактора VIII выбран из группы, состоящей из фрагмента A2 и фрагмента C2 фактора VIII.

20. Выделенный CALLAR по любому из пп. 15 или 16, где трансмембранный домен содержит шарнирную область альфа-цепи CD8 и трансмембранный домен.

21. Выделенный CALLAR по п. 20, где альфа-цепь CD8 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7 и трансмембранный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8.

22. Выделенный CALLAR по п. 16, где внутриклеточный домен костимулирующей молекулы содержит внутриклеточный домен 4-1BB.

23. Выделенный CALLAR по любому из пп. 15 или 22, где внутриклеточный домен 4-1BB содержит SEQ ID NO:10.

24. Выделенный CALLAR по п. 16, где внутриклеточный сигнальный домен содержит сигнальный домен CD3-зета.

25. Выделенный CALLAR по любому из пп. 15 или 24, где сигнальный домен CD3-зета содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12.

26. Генетически модифицированная клетка, содержащая CALLAR по любому из пп.15-25.

27. Клетка по п. 26, где клетка экспрессирует CALLAR и обладает высокой аффинностью к антителам, экспрессируемым на В-клетках.

28. Клетка по п. 26, где клетка экспрессирует CALLAR и индуцирует уничтожение В-клеток, экспрессирующих антитела.

29. Клетка по п. 26, где клетка экспрессирует CALLAR и обладает ограниченной токсичностью в отношении здоровых клеток.

30. Клетка по п. 26, где клетка выбрана из группы, состоящей из хелперной Т-клетки, цитотоксической Т-клетки, Т-клетки памяти, регуляторной Т-клетки, Т-клетки гамма-дельта, натурального киллера, моноцита, индуцируемой цитокинами киллерной клетки, их клеточной линии, и другой эффекторной клетки.

31. Способ лечения нарушения, связанного с антителами против FVIII, у индивидуума с гемофилией, причем способ включает:

введение индивидууму эффективного количества генетически модифицированной Т-клетки, содержащей выделенную последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую химерный рецептор аллоантигена (CALLAR),

где выделенная последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аллоантиген или его фрагмент,

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую трансмембранный домен, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB, и

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую сигнальный домен CD3-зета,

тем самым осуществляя лечение нарушения, связанного с антителами против FVIII, у индивидуума с гемофилией.

32. Способ лечения нарушения, связанного с антителами против FVIII, у индивидуума с гемофилией, причем способ включает:

введение индивидууму эффективного количества генетически модифицированной Т-клетки, содержащей выделенную последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую химерный рецептор аллоантигена (CALLAR),

где выделенная последовательность нуклеиновой кислоты содержит

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую субъединицу A2 фактора

VIII,

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую трансмембранный домен,  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный домен  
костимулирующей молекулы, и

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный  
сигнальный домен,

тем самым осуществляя лечение нарушения, связанного с антителами против FVIII,  
у индивидуума с гемофилией.

33. Способ по любому из пп. 31 или 32, где индивидуумом является человек.

34. Способ по любому из пп. 31 или 32, где модифицированная Т-клетка обладает  
высокой аффинностью в отношении антител против фактора VIII.

35. Способ по п. 34, где модифицированная Т-клетка нацелена на В-клетку,  
экспрессирующую антитела против фактора VIII.

36. Выделенный рецепторный комплекс KIR/DAP12, содержащий:

(а) химерный рецептор аллоантигена (CALLAR), содержащий  
субъединицу A2 фактора VIII или субъединицу C2 фактора VIII;

линкер; и

фрагмент KIR, содержащий трансмембранную область и цитоплазматический домен,  
и

(b) DAP12.

37. Выделенный рецепторный комплекс KIR/DAP12 по п. 36, где KIR представляет  
собой KIRS2 или KIR2DS2.

38. Выделенный рецепторный комплекс KIR/DAP12 по п. 36, где линкер представляет  
собой короткий глицин-сериновый линкер.

39. Генетически модифицированная клетка, содержащая выделенный рецепторный  
комплекс KIR/DAP12 по любому из пп.36-38.

40. Генетически модифицированная клетка, содержащая:  
выделенный химерный рецептор аллоантигена (CALLAR) и DAP12,  
где CALLAR содержит внеклеточный домен, содержащий  
субъединицу A2 фактора VIII или субъединицу C2 фактора VIII,

линкер и

фрагмент KIR,

где KIR содержит трансмембранную область и цитоплазматический домен.

41. Генетически модифицированная клетка по п. 40, где KIR представляет собой  
KIRS2 или KIR2DS2.

42. Генетически модифицированная клетка по любому из пп. 40 или 41, где линкер  
представляет собой короткий глицин-сериновый линкер.

43. Способ лечения нарушения, связанного с антителами против FVIII, у индивидуума  
с гемофилией, причем способ включает

введение индивидууму эффективного количества генетически модифицированных  
Т-клеток, содержащих:

выделенную последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую химерный  
рецептор аллоантигена (CALLAR), содержащий

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую субъединицу A2 фактора  
VIII или субъединицу C2 фактора VIII;

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую линкер;

последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую фрагмент KIR, содержащий  
трансмембранную область и цитоплазматический домен, и дополнительно содержащий  
последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую DAP12,

тем самым осуществляя лечение нарушения, связанного с антителами против FVIII,

A  
6  
9  
0  
0  
5  
6  
4  
1  
8  
1  
0  
2  
R  
U

R  
U  
2  
0  
1  
8  
1  
4  
0  
0  
5  
6  
A

у индивидуума с гемофилией.

44. Способ по п. 43, где линкер представляет собой короткий глицин-сериновый линкер.

45. Способ лечения нарушения, связанного с антителами против FVIII, у индивидуума с гемофилией, причем способ включает

введение индивидууму эффективного количества генетически модифицированных Т-клеток, содержащих

химерный рецептор аллоантигена (CALLAR), содержащий

субъединицу A2 фактора VIII или субъединицу C2 фактора VIII,

линкер,

фрагмент KIR, содержащий трансмембранную область и цитоплазматический домен, и дополнительно содержащий DAP12,

тем самым осуществляя лечение нарушения, связанного с антителами против FVIII, у индивидуума с гемофилией.

RU 2018140056 A

RU 2018140056 A