



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **128326** (13) **C2**
(51) МПК (2024.01)

C07K 16/28 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
A61K 39/00
A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2018 10056**
(22) Дата подання заявки: **31.03.2017**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **13.06.2024**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **62/317,219**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **01.04.2016**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **US**
(41) Публікація відомостей про заявку: **25.02.2019, Бюл.№ 4**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **12.06.2024, Бюл.№ 24**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/US2017/025613, 31.03.2017**

(72) Винахідник(и):
Баккер Еліс (US),
Бу Лоурен (US),
Арведсон Тара (US),
Вільцюс Джед. Дж. (US),
Родрігез Рубен Альварес (US)
(73) Володілець (володільці):
АМДЖЕН ІНК.,
One Amgen Center Drive, Thousand Oaks,
California 91320-1799, United States of
America (US),
КАЙТ ФАРМА, ІНК.,
2225 Colorado Avenue, Santa Monica,
California 90404, United States of America
(US)
(74) Представник:
Бочаров Максим Анатолійович, реєстр.
№367
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2015/142675 A2, 24.09.2015
US 2004/043401 A1, 04.03.2004
LI YIWEN ET AL. Suppression of leukemia
expressing wild-type or ITD-mutant FLT3
receptor by a fully human anti-FLT3
neutralizing antibody. BLOOD, THE
AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY,
US. 15.08.2004. Vol. 104. No. 4. P. 1137 -
1144
PILOTO OBDULIO ET AL. Inhibitory anti-FLT3
antibodies are capable of mediating antibody-
dependent cell-mediated cytotoxicity and
reducing engraftment of acute myelogenous
leukemia blasts in nonobese diabetic/severe
combined immunodeficient mice. CANCER
RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION
FOR CANCER RESEARCH, US. 15.02.2005.
Vol. 65. No. 4. P. 1514 - 1522

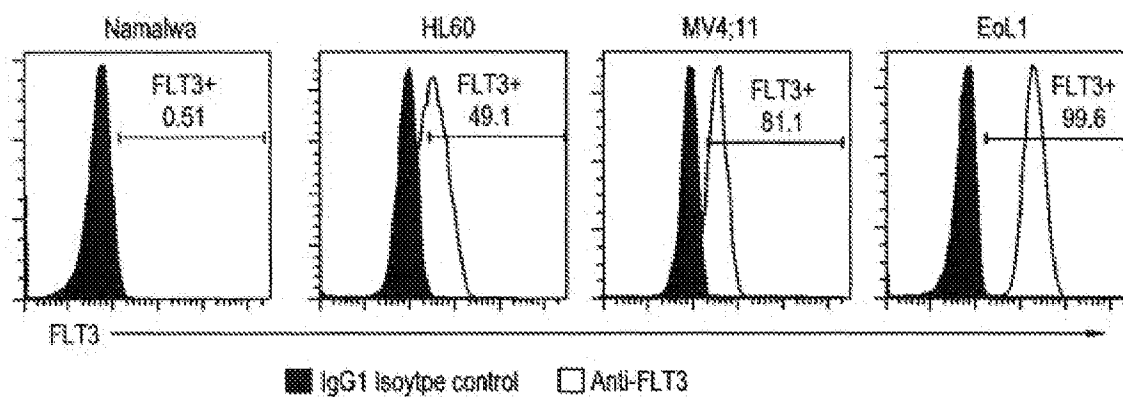
UA 128326 C2

(54) ХИМЕРНИЙ РЕЦЕПТОР ДО FLT3 ТА СПОСІБ ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується химерного рецептора, імунної клітини до FLT3, вектора, композиції та

способу лікування із застосуванням антигензв'язувальних молекул до FLT3 та розробленої імунної клітини.



Фиг. 1

Гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ) являє собою гетерогенну гематологічну злоякісну пухлину, яка є найбільш поширеним типом гострого лейкозу, діагностованим у дорослих пацієнтів. ГМЛ становить близько третини усіх випадків лейкозу, враховуючи очікувані 14500 нових випадків, про які повідомляється у 2013 році тільки в США, та низькі загальні показники виживання. Спостерігалось незначне покращення у стандарті лікування пацієнтів із ГМЛ протягом останніх тридцяти років. Проте, останні досягнення в молекулярній та клітинній біології радикально змінили наші уявлення про гемопоєз людини як у нормальному стані, так і у стані хвороби.

Були ідентифіковані декілька ключових гравців, які беруть участь у патогенезі захворювання, та вони можуть бути детально досліджені як цільові завдання. Одним з таких активуючих "драйверних" генів, які найчастіше є мутованими приблизно у 30 % ГМЛ, є FLT3.

Fms-подібна тирозинкіназа 3 (FLT3), також відома як зародкова печінкова кіназа 2 (FLK-2), кіназа людських стовбурових клітин 1 (SCK-1) або антиген кластера диференціювання (CD135), являє собою пов'язану із кровотворенням рецепторну тирозинкіназу, яку у 1990-х клонували дві незалежні групи. Ген FLT3, розташований у хромосомі 13q12 у людей, кодує рецепторний тирозинкіназний білок рецепторної тирозинкінази класу III, який розділяє гомологію з іншими членами сімейства класу III, в тому числі рецептором фактора стовбурових клітин (c-KIT), рецептором макрофагального колонієстимулюючого фактора (FMS) та рецептором фактора росту тромбоцитів (PDGFR).

При зв'язуванні з лігандом FLT3 рецептор FLT3 піддається гомогенізації, забезпечуючи таким чином автофосфорилування специфічних залишків тирозину в коломембранному домені та подальшу активацію шляхом маршрутів PI3K/Akt, MAPK та STAT5. Таким чином, FLT3 відіграє вирішальну роль у контролі проліферації, виживанні та диференціації нормальних гемопоетичних клітин.

Людський FLT3 експресується у CD34+CD38- гемопоетичних стовбурових клітинах (HSC), а також у субпопуляції дендритних клітин-попередників. Експресія FLT3 також може бути знайдена у мультипотентних клітинах-попередниках, наприклад, звичайних мієлоїдних клітинах-попередниках (CMP) CD34+CD38+CD45RA-CD123^{low}, клітинах попередників гранулоцитів та моноцитів (GMP) CD34+CD38+CD45RA+CD123^{low}, та загальних лімфоїдних клітинах-попередників (CLP) CD34+CD38+CD10+CD19-. Примітно, що експресія FLT3 практично відсутня у клітинах-попередниках мегакаріоцитів та еритроцитів (MEP) CD34+CD38-CD45RA-CD123-. Таким чином, експресія FLT3 переважно полягає у ранніх мієлоїдних та лімфоїдних клітинах-попередниках із деякою експресією в більш зрілих клітинах ряду моноцитів. Даний обмежений профіль експресії FLT3 різко контрастує з профілем експресії ліганда FLT3, який експресується у більшості гемопоетичних тканин та у передміхуровій залозі, нирці, легені, товстому кишечнику та серці. Дані різні профілі експресії, наприклад, експресія FLT3, являють собою стадію, яка обмежує швидкість реакції, у визначенні тканинної специфічності сигнальних шляхів FLT3.

Найбільш поширена мутація FLT3 у ГМЛ являє собою внутрішню тандемну дуплікацію FLT3 (FLT3-ITD), яка знайдена у 20-38 % пацієнтів із цитогенетично нормальним ГМЛ. FLT3-ITD утворюються, коли частина коломембранного домену, який кодує послідовність, дублюється та вставляється в орієнтації "голова-до-хвоста". Мутації FLT3 не були ідентифіковані у пацієнтів з хронічним лімфоїдним лейкозом (ХЛЛ), неходжкінською лімфомою та множинною мієломою, з чого можна зробити висновок про сильну специфічність захворювання для ГМЛ. Мутантна активація FLT3 зазвичай спостерігається в усіх підтипах FAB, проте, вона значно підвищується у пацієнтів, що мають ГМЛ, із FAB M5 (моноцитарний лейкоз), тоді як підтипи M2 та M6 FAB (гранулоцитарний або еритроїдний лейкоз) значно рідше пов'язані з активацією FLT3, у лінії з нормальними профілями експресії FLT3. У невеликого відсотка пацієнтів з ГМЛ (5-7 %) присутні одиночні амінокислотні мутації у тирозинкіназному домені FLT3 (FLT3 TKD), найбільш часто у D835 або, у деяких випадках, у T842 або I836, тоді як ще менша кількість пацієнтів (~1 %) мають приховану мутацію в коломембранному домені FLT3 за участю залишків 579, 590, 591 та 594. Пацієнти з мутованим FLT3-ITD ГМЛ мають агресивну форму захворювання, яка характеризується раннім рецидивом та низьким виживанням, тоді як загальне виживання та безподієве виживання значно не піддаються впливу наявності мутацій FLT3-TKD. Окрім того, пацієнти з ГМЛ, які мають мутацію FLT3-ITD, із одночасними мутаціями TET2 або DNMT3A, мають небажаний загальний профіль ризику порівняно з пацієнтами, що мають мутований FLT3-ITD ГМЛ, з TET2 або DNMT3A дикого типу, що підкреслює клінічну та біологічну гетерогенність ГМЛ.

Як мутації FLT3-ITD, так і мутації FLT3 TKD включають ліганд-залежну активацію FLT3, яка призводить до подальшої активації маршруту Ras/MAPK та маршрутів PI3K/Akt. Проте, подальші сигналізуючі маршрути, пов'язані з будь-якою мутацією, відрізняються, насамперед,

тим, що переважна активація STAT5 шляхом FLT3-ITD, що призводить, таким чином, до підвищення потенціалу проліферації та неправильної регуляції маршрутів відновлення ДНК.

Незалежно від статусу мутації FLT3, фосфорилювання FLT3 проявляється у більш ніж двох третин пацієнтів з ГМЛ, та FLT3 експресується у більше 80 % бластах ГМЛ та у близько 90 % усіх пацієнтів з ГМЛ, що робить його привабливою терапевтичною мішенню, пов'язаною з патогенезом захворювання у вибірці більшого розміру.

Декілька інгібіторів малих молекул виникли як привабливі можливі способи лікування для пацієнтів з ГМЛ із мутаціями FLT3. Перше покоління інгібіторів тирозинкінази FLT3 (TKI) характеризувалося відсутністю селективності, сили та небажаними фармакокінетичними властивостями. Для боротьби з цим питанням ніколи не були розроблені нові та більш селективні засоби; проте, їхня ефективність була обмежена виникненням вторинної резистентності.

Декілька ранніх FLT3 TKI крім інших включали мідостаурин (PKC412), лестауртиніб (CEP-701), сунитиніб (SU1248) та сорафініб (BAY 43-9006). Швидкості відповіді у фазі I та фазі II з даними засобами, націленими на декілька кіназ, у пацієнтів з рецидивуючим або резистентним ГМЛ обмежені, імовірно, у зв'язку з їхньою неспроможністю досягати ефективного інгібування FLT3 без токсичностей, що обмежують дозу. Квізартиніб (AC220) був розроблений як друге покоління FLT3 TKI з високою селективністю до FLT3 дикого типу та FLT3-ITD, та продемонстрував перевагу, зокрема, при встановленні перитрансплантата у більш молодшої групи пацієнтів. Проте, вторинні мутації в FLT3, знайдені у пацієнтів з рецидивом, які одержували квізартиніб, підкреслюють необхідність розробки кращих терапевтичних стратегій для пацієнтів з ГМЛ, підкреслюючи при цьому обґрунтованість FLT3 як терапевтичної мішені.

Деякі націлені засоби були протестовані у пацієнтів з ГМЛ або з первинним, рецидивуючим/резистентним, або з вторинним захворюванням. Епігенетичний сайленсінг генів, що пригнічують пухлину, відіграють важливу роль у патогенезі захворювання ГМЛ, та інгібітори метилтрансферази ДНК (DNMT), а саме азацитадін та децитабін, досягли деякого клінічного успіху. Окрім того, останнє виявлення мутацій, які негативно впливають на посттрансляційні модифікації гістона (наприклад, мутації EZH2 та ASXL1) або метилювання ДНК (наприклад, DNMT3A, TET2, IDH1/2) у субпопуляції пацієнтів з ГМЛ, забезпечили розвиток різноманітних можливих способів лікування, у тому числі інгібіторів EZH2, DOT1L, IDH1/2 разом з HDAC та інгібіторами протеази. Проте, доклінічні дослідження більшості даних компонентів в клітинах ГМЛ припускають, що дані інгібітори можуть змінювати характеристики фенотипічної та генної експресії гемопоетичної диференціації, аніж викликати безпосередню цитотоксичність бластів ГМЛ. Отже, залишається сильна незадоволена медична потреба у ідентифікації нових мішеней/способів для боротьби з ГМЛ та викликання націленого лізису клітин-бластів ГМЛ. Інші терапевтичні кандидати для ГМЛ включають інгібітори кінази Auroga, у тому числі AMG 900, та інгібітори для Polo-подібних кіназ, які відіграють важливу роль у прогресуванні клітинного циклу.

Стандарт лікування для пацієнтів з ГМЛ як і раніше являв собою хіміотерапію із трансплантацією стовбурових клітин по можливості. Проте, виникнення випадків рецидиву/резистентності у значної більшості пацієнтів, що лікувалися, гарантує додаткові терапевтичні способи. Ідентифікація та опис декількох специфічних до лейкозу антигенів разом із більш ясним розумінням імуноопосередкованих ефектів "трансплантат проти лейкозу" проклали шлях для розвитку імуномодуляторних стратегій для боротьби з гематологічними злоякісними новоутвореннями, розглянутими у декількох статтях.

Було показано, що розроблені імунні клітини мають необхідні якості у терапевтичних способах лікування, зокрема, в онкології. Два основних типи розроблених імунних клітин являють собою клітини, які містять химерні антигенні рецептори (що називаються "CAR" або "CAR-T") та Т-клітинні рецептори ("TCR"). Дані розроблені клітини розроблені для забезпечення антигенспецифічності для них, підтримуючи або посилюючи їхню здатність розпізнавати та знищувати клітину-мішень. Химерні антигенні рецептори можуть містити, наприклад, (i) антиген-специфічний компонент ("антигензв'язувальну молекулу"), (ii) один або декілька коstimулюючих доменів та (iii) один або декілька активуючих доменів. Кожен домен може бути гетерогенним, тобто, складатися з послідовностей, утворених з різних білкових ланцюгів. Імунні клітини, що експресують химерний антигенний рецептор, (наприклад, Т-клітини) можуть застосовуватися у різних варіантах терапії, у тому числі, варіантах терапії раку. Слід розуміти, що коstimулюючі поліпептиди, як зазначено в даному документі, можна застосовувати для посилення активації CAR-експресуючих клітин проти антигенів-мішеней та, отже, підвищувати силу адаптивної імунотерапії.

Т-клітини можуть бути розроблені для наявності специфічності до одного або декількох необхідних мішеней. Наприклад, Т-клітини можуть бути трансфіковані за допомогою ДНК або

іншого генетичного матеріалу, який кодує антигензв'язувальну молекулу, наприклад, одного або декількох варіабельних фрагментів антитіла з одним ланцюгом ("scFv"), разом з однією або декількома сигналізуючими молекулами, та/або одного або декількох активуючих доменів, наприклад, CD3 дзета.

5 Окрім здатності CAR-T-клітин розпізнавати та руйнувати клітини-мішені, успішна T-клітинна терапія підвищує здатність CAR-T-клітин зберігатися та підтримувати здатність до проліферації у відповідь на антиген.

Рецептори T-клітин (TCR) являють собою молекули, виявлені на поверхні T-клітин, які відповідають за розпізнавання фрагментів антигену як пептидів, пов'язаних з основними молекулами комплексу гістосумісності (MHC). TCR складається з двох різних білкових ланцюгів - приблизно у 95 % людських TCR, TCR складається з альфа (α) та бета (β) ланцюга. Приблизно у 5 % людських T-клітин TCR складається з гамма та дельта (γ/δ) ланцюгів. Кожен ланцюг складений з двох позаклітинних доменів: варіабельної області (V) та постійної області (C), обидві з надсімейства імуноглобулінів. Як і в інших імуноглобулінах, кожен з варіабельних доменів α-ланцюга та β-ланцюга TCR (або гамма та дельта (γ/δ) ланцюга) мають три гіперваріабельні області або області, що визначають комплементарність (CDR). Якщо TCR взаємодіє з антигенним пептидом та MHC (пептид/MHC), то T-клітина стає активованою, забезпечуючи її ураження та знищення клітини-мішені.

Проте, наявні на даний момент варіанти терапії показали змінні рівні ефективності з небажаними побічними ефектами. Отже, існує потреба в ідентифікації нових та покращених варіантів терапії для лікування пов'язаних з FLT3 захворювань та порушень.

Викладення суті винаходу

Даний винахід стосується розроблених імунних клітин (наприклад, CAR або TCR), антигензв'язувальних молекул (в тому числі без обмеження антитіл, scFv, важких та/або легких ланцюгів та CDR даних антигензв'язувальних молекул) зі специфічністю до FLT3.

Даний винахід також стосується нової послідовності CD28, придатної як коstimулюючі домени у даних клітинах.

Химерні антигенні рецептори за даним винаходом зазвичай включають наступне: (i) FLT3-специфічну антигензв'язувальну молекулу, (ii) один або декілька коstimулюючих доменів та (iii) один або декілька активуючих доменів. Слід розуміти, що кожен домен може бути гетерогенним, таким чином, складатися з послідовностей, утворених з різних білкових ланцюгів.

У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується химерного антигенного рецептора, що включає антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, при цьому антигензв'язувальна молекула містить щонайменше одне з наступного: (a) варіабельна область CDR1 важкого ланцюга, яка містить амінокислотну послідовність, яка відрізняється від послідовності у SEQ ID NO: 17 не більше ніж на 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків; (b) варіабельна область CDR2 важкого ланцюга, яка містить амінокислотну послідовність, яка відрізняється від послідовності у SEQ ID NO:18 або SEQ ID NO:26 не більше ніж на 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків; (c) варіабельна область CDR3 важкого ланцюга, яка містить амінокислотну послідовність яка відрізняється від послідовності у SEQ ID NO SEQ ID NO: 19 або SEQ ID NO:27 не більше ніж на 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків; (d) варіабельна область CDR1 легкого ланцюга, яка містить амінокислотну послідовність, яка відрізняється від послідовності у SEQ ID NO:22 або SEQ ID NO:30 не більше ніж на 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків; (e) варіабельна область CDR2 легкого ланцюга, яка містить амінокислотну послідовність, яка відрізняється від послідовності у SEQ ID NO:23 або 31 не більше ніж на 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків; (f) варіабельна область CDR3 легкого ланцюга, яка містить амінокислотну послідовність, яка відрізняється від послідовності у SEQ ID:24 або SEQ ID NO:32 не більше ніж на 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків.

В інших варіантах здійснення химерний антигенний рецептор додатково містить щонайменше один коstimулюючий домен. У наступних варіантах здійснення химерний антигенний рецептор додатково містить щонайменше один активуючий домен.

У деяких варіантах здійснення коstimулюючий домен являє собою сигнальну область CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, Programmed Death-1 (PD-1), індукований коstimулятор T-клітин (ICOS), пов'язаний із функцією лімфоцитів антиген-1 (LFA-1, CD11a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 епсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc гамма рецептор, молекулу MHC класу 1, TNF рецепторні білки, білок імуноглобулін, рецептор до цитокінів, інтегрин, сигнальні молекули активації лімфоцитів (білки SLAM), активуючі рецептори NK-клітин, BTLA, рецептор до Толл-лігандів, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRP1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-

7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI Ia, LFA-1, ITGAM, CDI Ib, ITGAX, CDI Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, ліганд, який специфічно зв'язується з CD83, або будь-які їх комбінації.

У деяких варіантах здійснення коstimулюючий домен одержаний з 4-1BB. В інших варіантах здійснення коstimулюючий домен одержаний з OX40. Див. також Hombach зі спіавт., *Oncoimmunology*. 2012 Jul. 1; 1(4): 458-466. У наступних варіантах здійснення коstimулюючий домен містить ICOS, як описано у Guedan зі спіавт., August 14, 2014; *Blood*: 124 (7) та Shen зі спіавт., *Journal of Hematology & Oncology* (2013) 6:33. У наступних варіантах здійснення коstimулюючий домен містить CD27, як описано у Song зі спіавт., *Oncoimmunology*. 2012 Jul. 1;1(4): 547-549.

У деяких варіантах здійснення коstimулюючий домен CD28 містить SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, або SEQ ID NO: 8. У додаткових варіантах здійснення коstimулюючий домен CD8 містить SEQ ID NO: 14. У наступних варіантах здійснення активуючий домен містить CD3, CD3 дзета або CD3 дзета з послідовністю, наведеною в SEQ ID NO: 10.

В інших варіантах здійснення даний винахід стосується химерного антигенного рецептора, де коstimулюючий домен містить SEQ ID NO: 2, а активуючий домен містить SEQ ID NO: 10.

Даний винахід також стосується полінуклеотидів, які кодують химерні антигенні рецептори, та векторів, які містять полінуклеотиди. Вектор може являти собою, наприклад, ретровірусний вектор, вектор ДНК, плазмиду, вектор РНК, аденовірусний вектор, пов'язаний із аденовірусом вектор, лентивірусний вектор або будь-які їх комбінації. Даний винахід також стосується імунних клітин, які містять вектори. У деяких варіантах здійснення лентивірусний вектор являє собою вектор pGAR.

Ілюстративні імунні клітини включають без обмеження Т-клітини, лімфоцити, що проникають у пухлину (TIL), NK-клітини, TCR-експресуючі клітини, дендритні клітини або NK-Т-клітини. Т-клітини можуть бути аутологічними, аллогенними або гетерологічними. В інших варіантах здійснення даний винахід стосується фармацевтичних композицій, які містять імунні клітини, як описано у даному документі.

У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується антигензв'язувальних молекул (та химерних антигенних рецепторів, які містять дані молекули), які містять щонайменше одне з наступного:

(а) область VH, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VH в 10E3 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків та область VL, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VL в 10E3 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків;

(b) область VH, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VH в 2E7 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків та область VL, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VL в 2E7 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків;

(c) область VH, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VH в 8B5 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків та область VL, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VL в 8B5 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків;

(d) область VH, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VH в 4E9 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків та область VL, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VL в 4E9 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків;

(e) область VH, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VH в 11F11 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків та область VL, яка відрізняється від амінокислотної послідовності області VL в 10E3 не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків;

та де область VH та VL або області зв'язані шляхом щонайменше одного лінкера.

В інших варіантах здійснення даний винахід стосується антигензв'язувальних молекул (та химерних антигенних рецепторів, які містять дані молекули), де лінкер містить щонайменше один з лінкера scFv G4S та лінкера scFv Whitlow.

В інших варіантах здійснення даний винахід стосується векторів, які кодують поліпептиди за даним винаходом, та до імунних клітин, які містять данні поліпептиди. Переважні імунні клітини

включають Т-клітини, лімфоцити, що проникають у пухлину (TIL), NK-клітини, TCR-експресуючі клітини, дендритні клітини або NK-Т-клітини. Т-клітини можуть бути аутологічними, аллогенними або гетерологічними.

В інших варіантах здійснення даних винахід стосується виділених полінуклеотидів, які кодуєть химерний антигенний рецептор (CAR) або Т-клітинний рецептор (TCR), які містять антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, де антигензв'язувальна молекула містить варіабельну область CDR3 важкого ланцюга (V_H), яка містить амінокислотну послідовність із SEQ ID NO: 19 або SEQ ID NO:27. Полінуклеотиди можуть додатково містити активуючий домен. У переважних варіантах здійснення активуючий домен являє собою CD3, більш переважно CD3 дзета, більш переважно амінокислотну послідовність, представлену в SEQ ID NO: 9.

В інших варіантах здійснення даних винахід включає коstimулюючий домен, наприклад, CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (альфа, бета, дельта, епсилон, гамма, дзета), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD 33, CD37, CD40, CD 45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, PD-1, ICOS, пов'язаний із функцією лімфоцитів антиген-1 (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (член надсімейства факторів некрозу пухлини 14; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc гамма рецептор, молекула MHC класу I, TNF, TNFr, інтегрин, сигнальна молекула активації лімфоцитів, BTLA, рецептор до Толл-лігандів, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRP1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8альфа, CD8beta, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI-Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI-1a, LFA-1, ITGAM, CDI-1b, ITGAX, CDI-1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD83 ліганд, або їхні фрагменти або комбінації. Переважні коstimулюючі домени представлені нижче у даному документі.

У наступних варіантах здійснення даних винахід стосується виділених полінуклеотидів, які кодуєть химерний антигенний рецептор (CAR) або Т-клітинний рецептор (TCR), де указаний CAR або TCR містить антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, та де антигензв'язувальна молекула містить варіабельну область CDR3 легкого ланцюга (V_L), яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO:24 та SEQ ID NO:32. Полінуклеотид може додатково містити активуючий домен. Полінуклеотид може додатково містити коstimулюючий домен.

В інших варіантах здійснення даних винахід стосується виділених полінуклеотидів, які кодуєть химерний антигенний рецептор (CAR), або Т-клітинного рецептора (TCR), який містить антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, де важкий ланцюг антигензв'язувальної молекули містить CDR1 (SEQ ID NO: 17), CDR2 (SEQ ID NO: 18), та CDR3 (SEQ ID NO: 19) та легкий ланцюг антигензв'язувальної молекули містить CDR1 (SEQ ID NO: 22), CDR2 (SEQ ID NO: 23), та CDR3 (SEQ ID NO: 24).

В інших варіантах здійснення даних винахід стосується виділених полінуклеотидів, які кодуєть химерний антигенний рецептор (CAR), або Т-клітинного рецептора (TCR), який містить антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, де важкий ланцюг антигензв'язувальної молекули містить CDR1 (SEQ ID NO: 17), CDR2 (SEQ ID NO: 26), та CDR3 (SEQ ID NO:27) та легкий ланцюг антигензв'язувальної молекули містить CDR1 (SEQ ID NO: 30), CDR2 (SEQ ID NO:31), та CDR3 (SEQ ID NO:32).

Даний винахід додатково стосується антигензв'язувальних молекул, що зв'язуються с FLT3, які містять щонайменше одну послідовність варіабельної області CDR3 важкого ланцюга або послідовності варіабельної області CDR3 легкого ланцюга, як зазначено в даному документі. Даний винахід додатково стосується антигензв'язувальних молекул, що зв'язуються с FLT3, які містять щонайменше одну послідовність варіабельної області CDR1, CDR2 та CDR3 важкого ланцюга відповідно до опису у даному документі. Даний винахід додатково стосується антигензв'язувальних молекул, що зв'язуються с FLT3, які містять щонайменше одну послідовність варіабельної області CDR1, CDR2 та CDR3 легкого ланцюга, як описано у даному документі. Даний винахід додатково стосується антигензв'язувальних молекул, що зв'язуються с FLT3, які містять як послідовності варіабельних областей CDR1, CDR2, CDR3 важкого ланцюга, так і послідовності варіабельних областей CDR1, CDR2 та CDR3 легкого ланцюга, як описано у даному документі.

Додаткові варіабельні домени важкого та легкого ланцюгів, полінуклеотид CDR та амінокислотні послідовності, придатні для застосування в FLT3-зв'язувальних молекулах

відповідно до даного винаходу, знайдені у Попередній заявці на патент № 62/199944, поданій 31 липня 2015 року.

Даний винахід додатково стосується способів лікування захворювання або порушення у суб'єкта, який цього потребує, які включають введення суб'єкту антигензв'язувальних молекул, CAR, TCR, полінуклеотидів, векторів, клітин або композицій за даним винаходом. Придатні для лікування захворювання включають без обмеження гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), хронічний мієлогений лейкоз (CML), хронічний мієломоноцитарний лейкоз (CMML), ювенільний мієломоноцитарний лейкоз, атиповий хронічний мієлоїдний лейкоз, гострий промієлоцитний лейкоз (APL), гострий монобластний лейкоз, гострий еритроїдний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, мієлодиспластичний синдром (MDS), мієлопроліферативне порушення, мієлоїдне новоутворення, мієлоїдна саркома) або їх комбінації. Додаткові захворювання включають запальні та/або автоімунні захворювання, наприклад, ревматоїдний артрит, псоріаз, види алергії, астму, хворобу Крона, IBD, IBS, фіброміалгію, мастоцитоз та глютенову ентеропатію.

Короткий опис графічних матеріалів

На фіг. 1 показана проточна цитометрія експресії поверхні клітин FLT3 на людських клітинних лініях.

На фіг. 2 показана експресія CAR у первинних людських Т-клітинах, електропорованих з мРНК, що кодує різні CAR.

На фіг. 3 показана цитолітична активність електропорованих Т-клітин CAR порівняно з декількома клітинними лініями після 16 годин спільного культивування.

На фіг. 4, яка включає фіг. 3А та 3В, показано одержання IFN γ , IL-2 та TNF α шляхом електропорованих Т-клітин CAR після 16 годин спільного культивування з указаними цільовими клітинними лініями.

На фіг. 5 показана експресія CAR в трансфікованих лентивірусом первинних людських Т-клітинах від двох здорових донорів.

На фіг. 6 показана середня цитолітична активність із часом від двох здорових донорів, які експресують указані CAR, спільно культивовані з різними цільовими клітинними лініями.

На фіг. 7, яка включає фіг. 7А, 7В та 7С, показано одержання IFN γ , TNF α та IL-2 шляхом трансфікованих лентивірусом людських Т-клітин CAR від двох здорових донорів після 16 годин спільного культивування з указаними цільовими клітинними лініями.

На фіг. 8 показана проліферація CFSE-мічених трансфікованих лентивірусом Т-клітин CAR від двох здорових донорів після 5 днів спільного культивування з гранулами CD3-CD28 або указаними цільовими клітинними лініями.

На фіг. 9 показана експресія CAR в трансфікованих лентивірусом первинних людських Т-клітинах, придатних для досліджень *in vivo*.

На фіг. 10 показана біолюмінесцентна візуалізація мічених клітин гострого мієлоїдного лейкозу після внутрішньої ін'єкції Т-клітин CAR в ксеногенної моделі.

На фіг. 11 показані криві виживання мишей, яким ін'єкували Т-клітини CAR.

На фіг. 12 показана векторна діаграма pGAR.

Детальний опис винаходу

Слід розуміти, що химерні антигенні рецептори (CAR або CAR-T) та Т-клітинні рецептори (TCR) є створеними методами генетичної інженерії рецепторами. Дані розроблені рецептори можуть бути легко введені всередину та експресовані імунними клітинами, в тому числі Т-клітинами, відповідно до методик, відомих у даній галузі. За допомогою CAR один рецептор може бути запрограмований як на розпізнавання специфічного антигена, так і, при зв'язуванні з даним антигеном, на активацію імунної клітини для ураження та руйнування клітини, яка несе даний антиген. Якщо дані антигени існують на клітинах пухлини, то імунна клітина, яка експресує CAR, може націлюватися та знищувати клітину пухлини.

CAR можуть бути розроблені для зв'язування з антигеном (наприклад, антиген клітинної поверхні) шляхом введення антигензв'язувальної молекули, яка взаємодіє з даним цільовим антигеном. Переважно, антигензв'язувальна молекула являє собою її фрагмент антитіла та, більш переважно, один або декілька одноланцюгових фрагментів антитіла ("scFv"). scFv являє собою одноланцюговий фрагмент антитіла, що має варіабельні області важких та легких ланцюгів антитіла, зв'язаних разом. Див. Патенти США №№ 7741465 та 6319494, а також Eshhag зі співавт., *Cancer Immunol Immunotherapy* (1997) 45: 131-136. scFv зберігає здатність вихідного антитіла до специфічної взаємодії з цільовим антигеном. scFv є переважними для застосування у химерних антигенних рецепторах, оскільки вони можуть бути розроблені з можливістю експресуватися як частини одного ланцюга разом з іншими компонентами CAR. Id. Див. також Krause зі співавт., *J. Exp. Med.*, вид. 188, No. 4, 1998 (619-626); Finney зі співавт.,

Journal of Immunology, 1998, 161: 2791-2797. Слід розуміти, що антигензв'язувальна молекула зазвичай міститься всередині позаклітинної частини CAR, так що вона здатна розпізнавати та зв'язуватися з антигеном, що становить інтерес. Біспецифічні та мультиспецифічні CAR розглядаються в об'ємі даного винаходу, зі специфічністю до більш ніж однієї цілі, що становить інтерес.

Костимулюючі домени. Химерні антигенні рецептори можуть вводити костимулюючі (сигналізуючі) домени для підвищення їхньої сили. Див. Патенти США №№ 7741465 та 6319494, а також Krause зі співавт. та Finney зі співавт. (вище), Song зі співавт., Blood 119:696-706 (2012); Kalos зі співавт., Sci Transl. Med. 3:95 (2011); Porter зі співавт., N. Engl. J. Med. 365:725-33 (2011), та Gross зі співавт., Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 56:59-83 (2016). Наприклад, CD28 являє собою костимулюючий білок, що в природних умовах знаходиться на Т-клітинах. Повна вихідна амінокислотна послідовність CD28 описана в ілюстративній послідовності NCBI: NP_006130.1. Повна вихідна послідовність нуклеїнової кислоти CD28 описана в NCBI Reference Sequence: NM_006139.1.

Певні домени CD28 застосовувались у химерних антигенних рецепторах. Відповідно до даного винаходу, у даний час було виявлено, що новий позаклітинний домен CD28, що називається "CD28T", несподівано забезпечує певні переваги при застосуванні в конструкції CAR.

Нуклеотидна послідовність молекули CD28T, в тому числі позаклітинний домен CD28T, та трансмембранний та внутрішньоклітинний домени CD28 наведені у SEQ ID NO: 1:

```
CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTC
ACCCTTGTTCCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCT
TGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCT
GCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAG
CCTTACGCACACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC
```

Відповідна амінокислотна послідовність наведена у SEQ ID NO: 2:

```
LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSK
RSRLLHSDYM NMTPRRPGPT RKHYQPYAPP RDFAAYS
```

Нуклеотидна послідовність позаклітинної частини CD28T наведена у SEQ ID NO: 3:

```
CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTC
ACCCTTGTTCCTGGTCCATCCAAGCCA
```

Відповідна амінокислотна послідовність позаклітинного домену CD28T наведена у SEQ ID NO: 4: LDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKP

Нуклеотидна послідовність трансмембранного домену CD28 наведена у SEQ ID NO: 5:

```
TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGC
TTTTATAATCTTCTGGGTT
```

Амінокислотна послідовність трансмембранного домену CD28 наведена у

SEQ ID NO: 6: FWVLVVVGGV LACYSLLVTV AFIIFWV

Нуклеотидна послідовність внутрішньоклітинного сигналізуючого домену CD28 наведена у SEQ ID NO: 7:

```
AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGG
CCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGC
```

Амінокислотна послідовність внутрішньоклітинного сигналізуючого домену CD28 наведена у SEQ ID NO: 8: RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYS

Додаткові послідовності CD28, придатні для застосування у даному винаході, включають нуклеотидну послідовність CD28, наведену у SEQ ID NO: 11:

```
ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCATCATTAC
GTGAAAGGTAAACACCTGTGTCTTCTCCCTCTTCCCCGGGCCATCAAAGCCC
```

Відповідна амінокислотна послідовність наведена у SEQ ID NO: 12:

```
IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKP
```

Інші придатні позаклітинні або трансмембранні послідовності можуть бути утворені з CD8. Нуклеотидна послідовність придатного позаклітинного та трансмембранного домену CD8 наведена у SEQ ID NO: 13:

```
GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTTAGTCACTTTGTACCAGTGTCTTGCCGGCT
AAGCCTACTACCACACCCGCTCCACGGCCACCTACCCAGCTCCTACCATCGCTTCACAGCCTC
TGTCCCTGCGCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGAGGGGGCGCTGTTTCATACCAGAGGACTGG
ATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGGCGTACTCCTGCTGTC
CCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC
```

Відповідна амінокислотна послідовність наведена у SEQ ID NO: 14:

```
AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA
```

CDIYIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCNHRN

Придатні костимулюючі домени, що входять в об'єм даного винаходу, можуть бути одержані, окрім інших джерел, з CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (альфа, бета, дельта, епсилон, гамма, дзета), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD 33, CD37, CD40, CD 45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, PD-1, ICOS, пов'язаний із функцією лімфоцитів антиген-1 (LFA-1 (CD11a/CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (член надсімейства факторів некрозу пухлини 14; TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc гамма рецептор, молекула МНС класу I, TNF, TNF α , інтегрин, сигнальна молекула активації лімфоцитів, BTLA, рецептор до Толл-лігандів, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8альфа, CD8beta, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, CD83 ліганд, або їхні фрагменти або комбінації.

Активуючі домени.

CD3 є елементом Т-клітинного рецептора на вихідній Т-клітині, та, як було показано, являє собою важливий внутрішньоклітинний активуючий елемент у CAR. У переважному варіанті здійснення CD3 являє собою CD3 дзета, нуклеотидна послідовність якого наведена у SEQ ID NO: 9:

AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTA
TAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCOCAGGAGGGTCTCTATAATGAGCTGCAG
AAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAG
GGCAGCAGCGTTTGTACCAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACAT
GCAAGCCCTGCCACCTAGG

Відповідна амінокислота внутрішньоклітинного CD3 дзета наведена у SEQ ID NO: 10:

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPR
RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

Орієнтація домена

Слід розуміти, що структурно дані домени відповідають локаціям, що відповідають імунним клітинам. Таким чином, дані домени можуть являти собою частину (i) "шарнірного" або позаклітинного (EC) домену (EC), (ii) трансмембранного (TM) домену та/або (iii) внутрішньоклітинного (цитоплазматичного) домену (IC). Внутрішньоклітинний компонент найчастіше містить частину члена сімейства CD3, переважно CD3 дзета, яка здатна активувати Т-клітину при зв'язуванні антигензв'язувальної молекули з її мішенню. В одному варіанті здійснення шарнірний домен зазвичай складається щонайменше з одного костимулюючого домену, як зазначено в даному документі.

Слід також розуміти, що шарнірна область також може містити декілька або всі члени сімейства імуноглобулінів, наприклад, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgD, IgE, IgM або їхні фрагменти.

Ілюстративні конструкції CAR відповідно до даного винаходу наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Назва конструкції	scFv	Костимулюючий домен	Активуючий домен
24C1 CD28T	24C1	CD28T	CD3 дзета
24C1 CD28	24C1	CD28	CD3 дзета
24C1 CD8	24C1	CD8	CD3 дзета
24C8 CD28T	24C8	CD28T	CD3 дзета
24C8 CD28	24C8	CD28	CD3 дзета
24C8 CD8	24C8	CD8	CD3 дзета
20C5.1 CD28T	20C5.1	CD28T	CD3 дзета
20C5.1 CD28	20C5.1	CD28	CD3 дзета
20C5.1 CD8	20C5.1	CD8	CD3 дзета
20C5.2 CD28T	20C5.2	CD28T	CD3 дзета
20C5.2 CD28	20C5.2	CD28	CD3 дзета
20C5.2 CD8	20C5.2	CD8	CD3 дзета

Домени, що відносяться до клітини

Слід розуміти, що відносно клітини, що несе рецептор, розроблені Т-клітини за даним винаходом містять антигензв'язувальну молекулу (наприклад, scFv), позаклітинний домен (який може містити "шарнірний" домен), трансмембранний домен та внутрішньоклітинний домен. Внутрішньоклітинний домен містить щонайменше в частині активуючого домену, переважно складається з членів сімейства CD3, наприклад, CD3 дзета, CD3 епсилон, CD3 гамма або їхніх частин. Слід також розуміти, що антигензв'язувальна молекула (наприклад, один або декілька scFv) розроблена таким чином, що вона розташована у позаклітинній частині молекули/конструкції, так що вона здатна розпізнавати та зв'язуватися з її мішенню або мішенями.

Позаклітинний домен. Позаклітинний домен є позитивним для сигналізуванню та для ефективною відповіді лімфоцитів на антиген. Позаклітинні домени для конкретного застосування відповідно до даного винаходу можуть бути утворені з (тобто, складатися з) CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, programmed death-1 (PD-1), індукованого коstimулятора Т-клітин (ICOS), зв'язаного з функцією лімфоцитів антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 епсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc гамма рецептора, молекули МНС класу 1, TNF рецепторних білків, білка імуноглобуліна, рецептора к цитокінам, інтегринів, сигнальних молекул активації лімфоцитів (білків SLAM), активуючих рецепторів NK-клітин, BTLA, рецептора до Толл-лігандів, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI Ia, LFA-1, ITGAM, CDI Ib, ITGAX, CDI Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, ліганда, який специфічно зв'язується з CD83, або будь-яких їхніх комбінацій. Позаклітинний домен може бути утворений або з природного, або з синтетичного джерела.

Як описано у даному документі, позаклітинні домени найчастіше містять шарнірну область. Вона являє собою частину позаклітинного домену, що іноді називається "спейсерною" областю. Відповідно до даного винаходу може застосовуватися різноманіття шарнірів, в тому числі коstimулюючі молекули, як обговорювалося вище, а також послідовності імуноглобуліна (Ig) або інші придатні молекули, для досягнення необхідної просторової відстані від клітини-мішені. У деяких варіантах здійснення вся позаклітинна область містить шарнірну область. У деяких варіантах здійснення шарнірна область містить CD28T або домен EC CD28.

Трансмембранний домен. CAR може бути сконструйований з можливістю включення у себе трансмембранного домену, який конденсований до позаклітинного домену CAR. Він може подібним чином бути конденсований до внутрішньоклітинного домену CAR. В одному варіанті здійснення застосовують трансмембранний домен, який в природних умовах зв'язаний з одним з доменів в CAR. У деяких випадках трансмембранний домен може бути вибраний з або модифікований шляхом амінокислотного заміщення, щоб уникнути зв'язування таких доменів з їх трансмембранними доменами або різними білками поверхневої мембрани для зведення до мінімуму взаємодій з іншими членами комплексу рецепторів. Трансмембранний домен може бути одержаний або з природного, або з синтетичного джерела. Якщо джерело є природним, то домен може бути утворений з будь-якого зв'язаного з мембраною або трансмембранного білка. Трансмембранні області для конкретного застосування відповідно до даного винаходу можуть бути утворені з (тобто, складатися з) CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, programmed death-1 (PD-1), індукованого коstimулятора Т-клітин (ICOS), зв'язаного з функцією лімфоцитів антигена-1 (LFA-1, CD1-1a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 епсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc гамма рецептора, молекули МНС класу 1, TNF рецепторних білків, білка імуноглобуліна, рецептора до цитокінів, інтегринів, сигнальних молекул активації лімфоцитів (білків SLAM), активуючих рецепторів NK-клітин, BTLA, рецептора к Толл-лігандам, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI Ia, LFA-1, ITGAM, CDI Ib, ITGAX, CDI Ic, ITGBI, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile),

CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, ліганда, який специфічно зв'язується з CD83, або будь-яких їхніх комбінацій.

5 Необов'язково, короткі лінкери можуть утворювати зв'язки між будь-якими або деякими позаклітинними, трансмембранними та внутрішньоклітинними доменами CAR.

В одному варіанті здійснення трансмембранний домен в CAR за даним винаходом являє собою трансмембранний домен CD8. В одному варіанті здійснення трансмембранний домен CD8 містить трансмембранну частину послідовності нуклеїнової кислоти у SEQ ID NO: 13. В
10 іншому варіанті здійснення трансмембранний домен CD8 містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує трансмембранну амінокислотну послідовність, яка міститься в SEQ ID NO: 14.

В деяких варіантах здійснення трансмембранний домен в CAR за даним винаходом являє собою трансмембранний домен CD28. В одному варіанті здійснення трансмембранний домен CD28 містить послідовність нуклеїнової кислоти у SEQ ID NO: 5. В одному варіанті здійснення трансмембранний домен CD28 містить послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує амінокислотну послідовність в SEQ ID NO: 6. В іншому варіанті здійснення трансмембранний домен CD28 містить амінокислотну послідовність в SEQ ID NO: 6.

Внутрішньоклітинний (цитоплазматичний) домен. Внутрішньоклітинний (цитоплазматичний) домен розроблених Т-клітин за даним винаходом може забезпечувати активацію щонайменше одної з нормальних ефекторних функцій імунної клітини. Ефекторна функція Т-клітини, наприклад, може являти собою цитолітичну активність або хелперну активність, в тому числі секрецію цитокінів.

Слід розуміти, що придатні внутрішньоклітинні молекули включають (тобто, містять) без обмеження CD28, CD28T, OX-40, 4-1BB/CD137, CD2, CD7, CD27, CD30, CD40, programmed death-1 (PD-1), індукованого коstimулятора Т-клітин (ICOS), зв'язаного з функцією лімфоцитів антигена-1 (LFA-1, CD11a/CD18), CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 епсилон, CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT, (TNFSF14), NKG2C, Ig альфа (CD79a), DAP-10, Fc гамма рецептора, молекули MHC класу 1, TNF рецепторних білків, білка імуноглобуліна, рецептора до цитокінів, інтегринів, сигнальних молекул активації лімфоцитів (білків SLAM), активуючих рецепторів NK-клітин, BTLA, рецептора к Толл-лігандам, ICAM-1, B7-H3, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, ліганда, який специфічно зв'язується з CD83, або будь-яких їхніх комбінацій.

40 У переважному варіанті здійснення цитоплазматичний домен CAR може бути сконструйований з можливістю включення в себе сигналізуючого домену CD3 дзета, самого по собі або з'єднаного з будь-яким іншим необхідним цитоплазматичним доменом(доменами), придатним у контексті CAR за даним винаходом. Наприклад, цитоплазматичний домен CAR може містити частину ланцюга CD3 дзета та коstimулюючу сигналізуючу область.

45 Цитоплазматичні сигналізуючі послідовності у цитоплазматичній сигналізуючій частині CAR за даним винаходом можуть бути зв'язані між собою у довільному або визначеному порядку.

В одному переважному варіанті здійснення цитоплазматичний домен призначений для включення в себе сигналізуючого домену CD3 дзета та сигналізуючого домену CD28. В іншому варіанті здійснення цитоплазматичний домен призначений для включення в себе сигналізуючого домену CD3 дзета та сигналізуючого домену 4-1BB. В іншому варіанті здійснення цитоплазматичний домен в CAR за даним винаходом призначений для включення в себе частини CD28 та CD3 дзета, при цьому цитоплазматична CD28 містить послідовність нуклеїнової кислоти, наведену в SEQ ID NO: 7 та амінокислотну послідовність, наведену в SEQ ID NO: 8. Послідовність нуклеїнової кислоти CD3 дзета наведена у SEQ ID NO: 9, та амінокислотна послідовність наведена у SEQ ID NO: 8.

55 Слід розуміти, що одна переважна орієнтація CAR відповідно до даного винаходу містить антигензв'язувальний домен (наприклад, scFv) спільно з коstimулюючим доменом та активуючим доменом. Коstimулюючий домен може містити одну або декілька позаклітинних частин, трансмембранну частину та внутрішньоклітинну частину. Слід також розуміти, що
60 декілька коstimулюючих доменів можуть застосовуватися спільно.

У деяких варіантах здійснення представлені нуклеїнові кислоти, які містять промотор, функціонально пов'язаний із першим полінуклеотидом, які кодують антигензв'язувальну молекулу, щонайменше одну костимулюючу молекулу та активуючий домен.

У деяких варіантах здійснення конструкція нуклеїнової кислоти міститься всередині вірусного вектора. У деяких варіантах здійснення вірусний вектор вибраний з групи, яка включає ретровірусні вектори, вектори вірусу лейкозу мишей, вектори SFG, аденовірусні вектори, лентивірусні вектори, вектори аденоасоційованого вірусу (AAV), вектори вірусу герпесу та вектор вірусу осповакцини. У деяких варіантах здійснення нуклеїнова кислота міститься всередині плазміди.

Даний винахід додатково стосується виділених полінуклеотидів, які кодують химерні антигенні рецептори, та векторам, які містять полінуклеотиди. Будь-який вектор, відомий у даній галузі, може бути придатний для даного винаходу. У деяких варіантах здійснення вектор являє собою вірусний вектор. У деяких варіантах здійснення вектор являє собою ретровірусний вектор (наприклад, rMSVG1), вектор ДНК, вектор вірусу лейкозу мишей, вектор SFG, плазмиду, вектор РНК, аденовірусний вектор, бакуловірусний вектор, вектор вірусу Епштейна-Барр, вектор паповавірусу, вектор вірусу осповакцини, вектор вірусу простого герпесу, вектор аденоасоційованого вірусу (AAV), лентивірусний вектор (наприклад, pGAR) або будь-які їх комбінації. Карта вектора pGAR показана на фіг. 12. Послідовність pGAR є наступною:

```

CTGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGA
CCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCTCTCGCCACG
TTCGCGCGGCTTTCCCGGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTT
ACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGA
TAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACT
GGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGCGCC
TATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAATAATTTAACGCGAATTTTAACAATAATTAACGCTTA
CAATTTGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGGCTCTTC
GCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGG
GTTTTCCAGTCACGACGTTGTAAACGACGGGCCAGTGAATTGTAATACGACTCACTATAGGGCG
ACCCGGGGGATGGCGCGCCAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTT
CCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCGCCCATTTG
ACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGT
GGAGTATTTACGGTAAACTGCCCCTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCC
CTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGAC
TTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGCTGATGCGGTTTTGGCAG
TACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTTGACTCACGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGACG
TCAATGGGAGTTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAATAATGTCTGTAACAACCTCGCC
CCATTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTGGTTTTAG
TGAACCGGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAAC
CCTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTG
TGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAATACTCTAGCAGTGGCG
CCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCT
TGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTGAC
TAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAGAATTAG
ATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGAAAGAAAAAATATAAATTAACATATAG
TATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGG
CTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCAT
TATATAATACAGTAGCAACCCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAA
GCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCACAGCAAGCCGCCGCTG
ATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGT
AGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAA
AAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCTTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGG
GCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCA
GAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATC
AAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGA
TTTGGGGTTGCTCTGGAAAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAAATGCTAGTTGGAGTAAT
AAATCTCTGGAACAGATTTTGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTA
CACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAGAATGAACAAGAATT
ATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTTGGCTGTGGTATAT
AAAATTATTATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGTCTGTACTTTCTATA
GTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCATTTATCGTTTTACAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGG

```

GACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTC
 GATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTA
 CAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAAC
 AAATTACAAAATTCAAAATTTTATCGCGATCGCGGAATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAA
 5 GCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAG
 ATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTT
 CCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTC
 TAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAAATGACCCTGTGCCTTATTTGA
 ACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGA
 10 GCCCACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCCTTCGAAGTAGATCTTTGTGATCCTACCATCCA
 CTCGACACACCCGCCAGCGGCGCTGCCAAGCTTCCGAGCTCTCGAATTAATTCACGGTACCCA
 CCATGGCCTAGGGAGACTAGTCGAATCGATATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTG
 ACTGGTATTCTTAACATGTTGCTCTTTTACGCTATCTGGATACGCTCTTAATGCCTTTGTATC
 ATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTA
 15 TGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACC
 CCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTGCTTTCCCCCTCC
 CTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGGCTCGGCTGT
 TGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAAGCTGACGTCTTTTCATGGCTGCTCGCCTG
 TGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCG
 20 GACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTGCCTTCGCCCTC
 AGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGTTAATTAAGTACCTTTAAGACCAA
 TGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCG
 AATTCACCTCCCAACGAAGACAAGATCTGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGAT
 CTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTT
 25 GAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAAGTAGAGATCCCTCAGACCC
 TTTTAGTCAGTGTGAAAATCTCTAGCAGGCATGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTG
 GACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAATAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTT
 TATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCATTTTATGTTTCA
 GGTTTCAGGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTTGGCGCGCCATCGTCGAGGTTCCCTTTAGTGAGGG
 30 TTAATTGCGAGCTTGGCGTAATCATGGTCATAGCTGTTTCTGTGTGAAATTGTTATCCGCTCACA
 ATTCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCTAATGAGTGAGCT
 AACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCT
 GCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCATTTGGGCGCTCTTCCGCTTC
 CTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTCTGCTCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAAA
 35 GGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAATGTGAGCAAAAGGC
 CAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCTTGTGCTGGCGTTTTTTCATAGGCTCCGCCCCC
 CTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAG
 ATACCAGGCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCTGCCGCTTACC
 GGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGT
 40 ATCTCAGTTCGGTGTAGGTGCTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCCCGTTACGCC
 CGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACCTATCGTCTTGAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCG
 CCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAG
 TTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCT
 GAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGT
 45 AGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCC
 TTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAACGAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCA
 TGAGATTATCAAAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAATAATGAAGTTTTAAATCAATCTA
 AAGTATATATGAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGC
 GATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGG
 50 AGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAG
 ATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCAACTTTATC
 CGCCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTT
 TGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTTGGTATGGCTTCA
 TTCAGCTCCGGTTCCTCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAGCGGT
 55 TAGCTCCTTCGGTCTCCGATCGTTGTGAGAAGTAAGTTGGCCGAGTGTTATCACTCATGGTTA
 TGGCAGCACTGCATAATTCTTACTGTATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAG
 TACTCAACCAAGTCATTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCCGGCGTCAAT
 ACGGGATAATAACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAAGTGCTCATTCATTGAAAACGTTCTTCGG
 GCGAAAACCTCTCAAGGATCTTACCGCTGTTGAGATCCAGTTCGATGTAACCCACTCGTGACCC
 60 AACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTCACCAGCGTTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAA

TGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTCAAT
ATTATTGAAGCATTTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAA
TAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCAC (SEQ ID NO: 95)

Додаткові придатні ілюстративні вектори включають, наприклад, pBABE-puro, pBABE-neo
5 largeTcDNA, pBABE-hygro-hTERT, pMKO.1 GFP, MSCV-IRES-GFP, pMSCV PIG (Puro IRES GFP
порожню плазмиду), pMSCV-loxp-dsRed-loxp-eGFP-Puro-WPRE, MSCV IRES люциферазу, pMIG,
MDH1-PGK-GFP_2.0, TtRMPVIR, pMSCV-IRES-mCherry FP, pRetroX GFP T2A Cre, pRXTN,
pLncEXP, та pLXIN-Luc.

У деяких варіантах здійснення розроблена імунна клітина являє собою Т-клітину, лімфоцит,
10 що понижає у клітину (TIL), NK-клітину, TCR-експресуючу клітину, дендритну клітину або NK-T-
клітину. У деяких варіантах здійснення клітину одержують або виготовляють з периферійної
крові. У деяких варіантах здійснення клітину одержують або виготовляють з мононуклеарних
клітин (PBMC) периферійної крові. У деяких варіантах здійснення клітину одержують або
15 виготовляють з кісткового мозку. У деяких варіантах здійснення клітину одержують або
виготовляють з пуповинної крові. У деяких варіантах здійснення клітина являє собою людську
клітину. У деяких варіантах здійснення трансфікована або перетворена вектором нуклеїнової
кислоти із застосуванням способу, вибраного з групи, яка включає електропорацію,
сонопорацію, біолістику (наприклад, генетичну пушку), ліпідну трансфекцію,
полімернутрансфекцію, наночастки або поліплекси.

У деяких варіантах здійснення химерні антигенні рецептори експресуються у розроблених
20 імунних клітинах, які містять нуклеїнові кислоти за даною заявкою. Данні химерні антигенні
рецептори за даною заявкою у деяких варіантах здійснення можуть містити (i)
антигензв'язувальну молекулу (наприклад, scFv), (ii) трансмембранну область та (iii) Т-клітинну
активуючу молекулу або область.

25 Антигензв'язувальні молекули

Антигензв'язувальні молекули входять до об'єму даного винаходу.

Застосована у даному документі "антигензв'язувальна молекула" означає будь-який білок,
який зв'язується з указаним цільовим антигеном. У даній заявці вказаний цільовий антиген
являє собою білок FLT3 або його фрагмент. Антигензв'язувальні молекули включають без
30 обмеження антитіла та його зв'язувальні частини, наприклад, імунологічні функціональні
фрагменти. Пептидні антитіла (тобто, Fc конденсовані молекули, які містять домени, що
зв'язуються з пептидами) являють собою інші приклади придатних антигензв'язувальних
молекул.

У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула зв'язується з антигеном на
35 клітині пухлини. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула зв'язується з
антигеном на клітині, залученої до гіперпроліферативного захворювання, або з вірусним або
бактеріальним антигеном. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула
зв'язується з FLT3. У наступних варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула являє
собою антитіло або його фрагмент, в тому числі одну або декілька його областей, що
40 визначають комплементарність (CDR). У наступних варіантах здійснення антигензв'язувальна
молекула являє собою варіабельний фрагмент з одним ланцюгом (scFv).

Термін "імунологічно функціональний фрагмент" (або "фрагмент") антигензв'язувальної
молекули являє собою вид антигензв'язувальної молекули, яка містить частину (незалежно від
того, яким чином дана частина одержана або синтезована) антитіла, у якій відсутні
45 щонайменше декілька амінокислот, які присутні у повнорозмірному ланцюзі, але які все ще
здатні до специфічного зв'язування з антигеном. Такі фрагменти біологічно активні в тому, що
вони зв'язуються з антигеном-мішенню та можуть завершуватися іншими
антигензв'язувальними молекулами, в тому числі інтактних антитіл, для зв'язування зі вказаним
епітопом. У деяких варіантах здійснення фрагменти являють собою нейтралізуючі фрагменти. У
50 деяких варіантах здійснення фрагменти можуть блокувати або знижувати активність FLT3. В
одному аспекті такий фрагмент буде зберігати щонайменше одну CDR, яка присутня у
повнорозмірному легкому або важкому ланцюзі, та у деяких варіантах здійснення буде містити
один важкий та/або легкий ланцюг або його частину. Дані фрагменти можуть бути одержані
шляхом методик рекомбінантної ДНК або можуть бути одержані шляхом ферментативного або
55 хімічного відщеплення антигензв'язувальних молекул, в тому числі інтактних антитіл.

Імунологічно функціональні фрагменти включають без обмеження фрагменти scFv,
фрагменти Fab (Fab', F(ab')₂ тощо), одну або декілька CDR, діатіла (варіабельний домен
важкого ланцюга на тому ж поліпептиді, що й варіабельний домен легкого ланцюга, з'єднані
шляхом короткого пептидного лінкера, який надто короткий для забезпечення об'єднання між
60 двома доменами того ж ланцюга), доменні антитіла та антитіла з одним ланцюгом. Дані

фрагменти можуть бути одержані з будь-якого джерела, що відноситься до ссавців, в тому числі без обмеження людини, миші, щура, верблюжих або кролика. Як буде зрозуміло спеціалісту в даній галузі, антигензв'язувальна молекула може включати компоненти, які не є білковими.

Варіанти антигензв'язувальних молекул також входять в об'єм даного винаходу, наприклад, варіабельна область легкого ланцюга та/або варіабельна область важкого ланцюга, кожна з яких щонайменше на 70-80 %, на 80-85 %, на 85-90 %, на 90-95 %, на 95-97 %, на 97-99 % або більше ніж на 99 % ідентична амінокислотним послідовностям послідовностей, описаних у даному документі. У деяких випадках такі молекули включають щонайменше один важкий ланцюг та один легкий ланцюг, тоді як в інших випадках варіантні форми містять два ідентичні легких ланцюга та два ідентичні важких ланцюга (або їхні підчастини). Спеціаліст в даній галузі легко визначить придатні варіанти антигензв'язувальних молекул та застосування добре відомих методик, як зазначено в даному документі. У деяких варіантах здійснення спеціаліст в даній галузі зможе визначити придатні області молекули, які можуть бути змінені без порушення активності шляхом націлених областей, які не вважаються важливими для активності.

У деяких варіантах здійснення поліпептидна структура антигензв'язувальних молекул основана на антитілах, в тому числі без обмеження моноклональних антитілах, біспецифічних антитілах, мініантитілах, доменних антитілах, синтетичних антитілах (що іноді називаються у даному документі "міметиками антитіл"), химерних антитілах, гуманізованих антитілах, людських антитілах, злиттях антитіл (що іноді називаються у даному документі "кон'югатами антитіл"), та їхніх фрагментах, відповідно. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула містить або складається з авімерів.

У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальну молекулу для FLT3 вводять окремо. В інших варіантах здійснення антигензв'язувальну молекулу для FLT3 вводять у вигляді частини CAR, TCR або іншої імунної клітини. У таких імунних клітинах антигензв'язувальна молекула для FLT3 може бути під контролем тієї ж промоторної області або окремого промотора. У деяких варіантах здійснення білкові засоби, що кодуєть білки, та/або антигензв'язувальна молекула для FLT3 можуть бути в окремих векторах.

У даному винаході додатково представлені фармацевтичні композиції, які містять антигензв'язувальну молекулу для FLT3 разом з фармацевтично прийнятним розріджувачем, носієм, розчинником, емульгатором, консервантом та/або допоміжним засобом. У деяких варіантах здійснення фармацевтичні композиції будуть включати більше одної відмітної антигензв'язувальної молекули для FLT3. У деяких варіантах здійснення фармацевтичні композиції будуть включати більше однієї антигензв'язувальної молекули для FLT3, де антигензв'язувальні молекули для FLT3 зв'язуються більше ніж з одним епітопом. У деяких варіантах здійснення різні антигензв'язувальні молекули не будуть конкурувати одна з одною за зв'язування з FLT3.

В інших варіантах здійснення фармацевтична композиція може бути вибрана для парентеральної доставки, для інгаляції або для доставки через шлунково-кишковий тракт, наприклад перорально. Одержання таких фармацевтично прийнятних композицій входить до компетенції спеціаліста у даній галузі. У деяких варіантах здійснення для підтримки фізіологічного pH або дещо більш низького pH композиції застосовують буфери, зазвичай всередині діапазона pH від приблизно 5 до приблизно 8. У деяких варіантах здійснення, якщо розглядається парентеральне введення, то терапевтична композиція може бути у формі апірогенного, парентерально-прийнятного водного розчину, який містить необхідну антигензв'язувальну молекулу для FLT3, із додатковими терапевтичними засобами або без них, у фармацевтично прийнятному середовищі. У деяких варіантах здійснення середовище для парентеральної ін'єкції являє собою стерильну дистильовану воду, у якій антигензв'язувальна молекула для FLT3, щонайменше з одним додатковим терапевтичним засобом або без нього, складена у вигляді стерильного ізотонічного розчину, збереженого належним чином. У деяких варіантах здійснення одержання може включати складання необхідної молекули з полімерними сполуками (такими як полімолочна кислота або полігліколева кислота), гранулами або ліпосомами, які можуть забезпечувати контрольоване або уповільнене вивільнення продукту, який потім може бути доставлений шляхом ін'єкції речовини уповільненого всмоктування. У деяких варіантах здійснення для введення необхідної молекули можуть застосовуватися імплантовані пристрої для доставки лікарських засобів.

У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула застосовується як діагностичний інструмент або інструмент для підтвердження. Антигензв'язувальна молекула може застосовуватися для дослідження кількості FLT3, присутнього у зразку та/або у суб'єкта. У деяких варіантах здійснення діагностична антигензв'язувальна молекула не є такою, що нейтралізує. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальні молекули, розкриті у даному

документі, застосовуються або представлені у наборі для дослідження та/або способі визначення FLT3 у тканинах або клітинах ссавця з метою контролю/діагностики захворювання або порушення, пов'язаних зі змінами рівнів FLT3. Набір може включати антигензв'язувальну молекулу, яка зв'язується з FLT3, разом із засобами для визначення зв'язування антигензв'язувальної молекули з FLT3, за наявності, та необов'язково білкових рівнів FLT3.

Антигензв'язувальна молекула буде додатково зрозуміла з урахуванням визначень та описів нижче.

Область "Fc" містить два фрагмента з важким ланцюгом, які містять домени CH1 та CH2 антитіла. Два фрагмента з важким ланцюгом утримуються разом шляхом двох або більше дисульфідних зв'язків та шляхом гідрофобних взаємодій доменів CH3.

"Фрагмент Fab" містить один легкий ланцюг, CH1 та варіабельні області одного важкого ланцюга. Один важкий ланцюг молекули Fab не може утворювати дисульфідний зв'язок з іншою молекулою з важким ланцюгом. "Фрагмент Fab" містить один легкий ланцюг та частину одного важкого ланцюга, яка містить домен VH та домен CH1, а також область між доменами CH1 та CH2, так що дисульфідний зв'язок між ланцюгами може бути утворений між двома важкими ланцюгами двох фрагментів Fab' із утворенням молекули F(ab')₂. "Фрагмент F(ab')₂" містить два легкі ланцюги та два важкі ланцюги, які містять частину постійної області між доменами CH1 та CH2, отже дисульфідний зв'язок між ланцюгами утворений між двома важкими ланцюгами. Фрагмент F(ab')₂, складений, таким чином, з двох фрагментів Fab', які утримуються разом шляхом дисульфідного зв'язку між двома важкими ланцюгами.

"Область Fv" містить варіабельні області як з важкого, так і з легкого ланцюгів, але не містить постійних областей.

"Варіабельний фрагмент одного ланцюга" ("scFv", що також називається "антитілом з одним ланцюгом") стосується молекул Fv, у яких варіабельні області важкого та легкого ланцюгів були з'єднані шляхом гнучкого лінкера з утворенням одного поліпептидного ланцюга, який утворює антигензв'язувальну область. Див. Заявку РСТ WO88/01649 та Патенти США №№ 4946778 та 5260203, розкриття яких включено шляхом посилання в усій своїй повноті.

"Двохвалентна антигензв'язувальна молекула" містить дві антигензв'язувальні області. У деяких випадках дві зв'язувальні області мають ті самі антигенні специфічності. Двохвалентні антигензв'язувальні молекули можуть бути біспецифічними. "Мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула" являє собою молекулу, яка націлюється більш ніж на один антиген або епітоп. "Біспецифічна", "із подвійною специфічністю" або "біфункціональна" антигензв'язувальна молекула являє собою гібридну антигензв'язувальну молекулу або антитіло, відповідно, з двома різними антигензв'язувальними областями. Дві зв'язувальні області біспецифічної антигензв'язувальної молекули будуть зв'язуватися з двома різними епітопами, які можуть знаходитися на одних й тих самих або різних мішенях білка.

Як повідомляється, антигензв'язувальна молекула "специфічно зв'язує" її антиген-мішень, якщо константа дисоціації (K_d) становить $\sim 1 \times 10^{-7}$ М. Антигензв'язувальна молекула специфічно зв'язується з антигеном, що має "високу афінність", якщо K_d становить $1-5 \times 10^{-9}$ М, та ще має "вкрай високу афінність", якщо K_d становить $1-5 \times 10^{-10}$ М. В одному варіанті здійснення антигензв'язувальна молекула характеризується K_d, рівною 10^{-9} М. В одному варіанті здійснення швидкість дисоціації становить $< 1 \times 10^{-5}$. В інших варіантах здійснення антигензв'язувальні молекули будуть зв'язуватися із людським FLT3 при K_d від приблизно 10^{-7} М до 10^{-13} М, та у ще одному варіанті здійснення антигензв'язувальні молекули будуть зв'язуватися при K_d $1,0-5 \times 10^{-10}$.

Як повідомляється, антигензв'язувальна молекула є "селективною", якщо вона зв'язується з однією мішенню більш міцно, ніж вона зв'язується із другою мішенню.

Термін "антитіло" стосується інтактного імуноглобуліна будь-якого ізо типу або його фрагменту, який може конкурувати з інтактним антитілом за специфічне зв'язування з антигеном-мішенню, та включає, наприклад, химерні, гуманізовані, повністю людські та біспецифічні антитіла. "Антитіло" являє собою вид антигензв'язувальної молекули, описаної у даному документі. Інтактне антитіло, як правило, буде містити щонайменше два повнорозмірні важкі ланцюги та два повнорозмірні легкі ланцюги, але у деяких випадках може включати меншу кількість ланцюгів, наприклад, антитіла, які у природних умовах зустрічаються у верблюжих, які можуть містити тільки важкі ланцюги. Антитіла можуть бути утворені виключно з одного джерела, або можуть бути химерними, тобто, різні частини антитіла можуть бути утворені з двох різних антитіл, як додатково описано нижче. Антигензв'язувальні молекули, антитіла або зв'язувальні фрагменти можуть бути одержані в гібридомах, шляхом методик рекомбінантної ДНК, або шляхом ферментативного або хімічного відщеплення інтактних антитіл. Якщо не вказано інше, термін "антитіло" включає, окрім антитіл, які містять два повнорозмірні важкі ланцюги та два повнорозмірні легкі ланцюги, його похідні, варіанти, фрагменти та мутеїни,

приклади яких описані нижче. Більше того, якщо явно не виключено, антитіла включають моноклональні антитіла, біспецифічні антитіла, мініантитіла, доменні антитіла, синтетичні антитіла (що іноді називаються у даному документі "міметиками антитіл"), химерні антитіла, гуманізовані антитіла, людські антитіла, злиття антитіл (що іноді називаються у даному документі "кон'югатами антитіл") та їхні фрагменти, відповідно.

Варіабельні області, як правило, демонструють ту саму загальну структуру областей відносно консервативного каркаса (FR), з'єднаних шляхом 3 гіперваріабельних областей (тобто, "CDR"). CDR з двох ланцюгів кожної пари зазвичай вирівнюються шляхом областей каркаса, які можуть забезпечувати зв'язування із конкретним епітопом. Від N-кінця до C-кінця варіабельні області як легкого ланцюга, так і важкого ланцюга зазвичай містять домени FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 та FR4. Умовно вважається, що області CDR в важкому ланцюзі зазвичай називаються HC CDR1, CDR2 та CDR3. Области CDR в легкого ланцюга зазвичай називаються LC CDR1, CDR2 та CDR3. Призначення амінокислот для кожного домену зазвичай відповідає визначенням Kabat (Seqs of Proteins of Immunological Interest (NIH, Bethesda, MD (1987 та 1991)) або Chothia (J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987); Chothia зі співавт., Nature, 342:878-883 (1989)). Для ідентифікації або приблизного визначення областей CDR можуть застосовуватися різні способи, в тому числі не лише Kabat або Chothia, але також визначення AbM.

Термін "легкий ланцюг" включає повнорозмірний легкий ланцюг та його фрагменти із достатньою послідовністю варіабельної області для забезпечення специфічності зв'язування. Повнорозмірний легкий ланцюг включає домен варіабельної області, V_L , та домен постійної області, C_L . Домен варіабельної області легкого ланцюга являє собою аміно-кінець поліпептиду. Легкі ланцюги включають каппа-ланцюги та лямбда-ланцюги.

Термін "важкий ланцюг" включає повнорозмірний важкий ланцюг та її фрагменти із достатньою послідовністю варіабельної області для забезпечення специфічності зв'язування. Повнорозмірний важкий ланцюг включає домен варіабельної області, V_H та три домену постійної області, $CH1$, $CH2$ та $CH3$. Домен V_H розташований близько аміно-кінця поліпептиду, а домени C_H розташовані близько карбоксильного кінця, при цьому $CH3$ найбільш близько розташований до карбоксильного кінця поліпептиду. Важкі ланцюги можуть являти собою будь-який ізотип, в тому числі IgG (включаючи підтипи IgG1, IgG2, IgG3 та IgG4), IgA (включаючи підтипи IgA1 та IgA2), IgM та IgE.

Термін "варіабельна область" або "варіабельний домен" стосується частини легкого та/або важкого ланцюгів антитіла, зазвичай включаючи приблизно аміно-кінець від 120 до 130 амінокислот у важкому ланцюзі та приблизно від 100 до 110 амінокінцевих амінокислот у легкому ланцюзі. Варіабельна область антитіла зазвичай визначає специфічність конкретного антитіла відносно його мішені.

Варіабельність не розподіляється рівномірно по всім варіабельним доменам антитіл; вона зосереджена в піддоменах кожної з варіабельних областей важкого і легкого ланцюгів. Такі домени називаються "гіперваріабельні області" або "областями, що визначають комплементарність" (CDR). Більш консервативні (тобто, негіперваріабельні) частини варіабельних доменів називаються "каркасними" областями (FRM або FR) і забезпечують каркас для утворення антигензв'язуючої поверхні з шести CDR в тривимірному просторі. Варіабельні домени важких і легких ланцюгів, що зустрічаються в природі, містять чотири FRM-області (FR1, FR2, FR3 і FR4), в основному з використанням конфігурації β -листа, з'єднану трьома гіперваріабельними областями, які утворюють петлі, що з'єднують структуру β -листа, а в деяких випадках утворюють частину його структури. Гіперваріабельні області в кожному ланцюзі утримуються разом в безпосередній близькості від FRM і разом з гіперваріабельні областями іншого ланцюга сприяють утворенню антигензв'язуючого сайту (див. Kabat зі співавт., Loc. Cit.).

Термін "CDR" в однині та множині стосується області, що визначає компліментарність. Три такі області надають зв'язуючий характер варіабельній області легкого ланцюга (CDR-L1, CDR-L2 і CDR-L3), а ще три надають зв'язуючий характер варіабельній області важкого ланцюга (CDR-H1, CDR-H2 і CDR-H3). CDR містять велику частину залишків, відповідальних за специфічні взаємодії антитіла з антигеном і, отже, сприяють функціональній активності молекули антитіла: вони є основними детермінантами антигенної специфічності.

Конкретні визначення меж і довжин CDR прив'язані до різних систем класифікації та нумерації. Тому CDR можуть визначатися за Kabat, Chothia, визначенням контактних або будь-яких інших меж, включаючи описану в цьому документі систему нумерації. Незважаючи на різні межі, кожна з таких систем має певний рівень перекривання в тому, що складає так звані "гіперваріабельні області" в варіабельних послідовності. Таким чином, визначення CDR відповідно до цих систем можуть відрізнятися за довжиною і межами областей стосовно

суміжної каркасної області. Див., наприклад, Kabat (підхід, заснований на міжвидовій варіабельності послідовностей), Chothia (підхід, заснований на кристалографічних дослідженнях комплексів антиген-антитіло) і/або MacCallum (Kabat зі співавт., *Loc. Cit.*; Chothia зі співавт., *J. Mol. Biol.*, 1987 p., 196: 901-917; та MacCallum зі співавт., *J. Mol. Biol.*, 1996 p., 262: 732). Ще одним стандартом для визначення характеристик сайту зв'язування антигену є визначення AbM, що використовується програмним забезпеченням для моделювання антитіл AbM Oxford Molecular. Див., наприклад, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. В: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). Тією мірою, якою два способи ідентифікації залишків визначають поверхні областей, що перекриваються, але не ідентичні, їх можна об'єднати для визначення гібридного CDR. Однак нумерація відповідно до так званої системи Kabat є кращою.

Як правило, CDR утворюють петлеву структуру, яка може бути класифікована як канонічна структура. Термін "канонічна структура" стосується конформації основного ланцюга, яка визначається петлями зв'язування антигену (CDR). В результаті порівняльних структурних досліджень було встановлено, що п'ять з шести антигензв'язуючих петель мають тільки обмежений репертуар доступних конформацій. Кожна канонічна структура може бути охарактеризована кутами закручування поліпептидного остова. Таким чином, відповідні петлі між антитілами можуть мати досить схожі тривимірні структури, незважаючи на високу варіабельність амінокислотної послідовності в більшості частин петель (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 1987 p., 196: 901; Chothia зі співавт., *Nature*, 1989 p., 342: 877; Martin and Thornton, *J. Mol. Biol.*, 1996 p., 263: 800). Крім того, існує взаємозв'язок між прийнятою структури петель і оточуючими її амінокислотними послідовностями. Конформація конкретного канонічного класу визначається довжиною петлі і амінокислотними залишками, що знаходяться в ключових положеннях всередині петлі, а також в межах консервативного каркасу (тобто, поза петлею). Таким чином, призначення конкретного канонічного класу може бути засноване на наявності цих ключових амінокислотних залишків.

Термін "канонічна структура" може також включати в себе міркування щодо лінійної послідовності антитіла, наприклад, відповідно до каталогізації за Kabat (Kabat зі співавт., *loc. cit.*). Схема (система) нумерації Kabat є широко прийнятим стандартом для нумерації амінокислотних залишків варіабельного домену антитіла узгодженим чином і є переважною схемою, яка застосовується в даному винаході, як також згадувалось в іншій частині даного документа. Додаткові міркування щодо структури також можуть бути використані для визначення канонічної структури антитіла. Наприклад, подібні відмінності, не в повному обсязі відображені нумерацією Kabat, можуть бути описані системою нумерації Chothia зі співавт. і/або розкриті іншими методиками, наприклад, за допомогою кристалографії і дво- або тривимірного комп'ютерного моделювання. Відповідно, така послідовність антитіла може бути віднесена до канонічного класу, який дозволяє, серед іншого, ідентифікувати відповідні каркасні послідовності (наприклад, виходячи з бажання включити в бібліотеку безліч канонічних структур). Нумерація амінокислотних послідовностей антитіла за Kabat і міркування щодо структури відповідно до опису у Chothia зі співавт., *loc. cit.*, а також їх значення для інтерпретації канонічних аспектів структури антитіла описані у відповідній літературі. Структури субодиниць і тривимірні конфігурації різних класів імуноглобулінів добре відомі в цій області. Для ознайомлення з оглядом структури антитіла див. *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow зі співавт., 1988 p.

CDR3 легкого ланцюга і, зокрема, CDR3 важкого ланцюга можуть являти собою найбільш важливі детермінанти зв'язування антигену в варіабельних областях легкого і важкого ланцюга. У деяких конструкціях антитіла CDR3 важкого ланцюга, очевидно, є основною областю контакту між антигеном і антитілом. Схеми відбору *in vitro*, в яких змінюється тільки CDR3, можуть бути використані для зміни зв'язуючих властивостей антитіла або визначення того, які залишки вносять вклад в зв'язування антигену. Отже, CDR3, як правило, є найбільшим джерелом молекулярної різноманітності в сайті, що зв'язує антитіло. НЗ, наприклад, може становити в довжину всього два амінокислотні залишки або перевищувати 26 амінокислот.

Термін "нейтралізуючий" стосується антигензв'язувальної молекули, scFv або антитіла, відповідно, які зв'язуються з лігандом та попереджають або знижують біологічний ефект даного ліганда. Це може бути здійснене, наприклад, шляхом безпосереднього блокування області зв'язування на ліганді або шляхом зв'язування з лігандом та зміни здатності ліганда до зв'язування шляхом непрямих засобів (таких як структурні або енергетичні зміни в ліганді). У деяких варіантах здійснення термін може також позначати антигензв'язувальну молекулу, яка попереджає здійснення біологічної функції білком, з яким вона зв'язується.

Термін "мішень" або "антиген" стосується молекули або частини молекули, які здатні

зв'язуватися з антигензв'язувальною молекулою. У деяких варіантах здійснення мішень може мати один або декілька епітопів.

Термін "конкурувати", при застосуванні в контексті антигензв'язувальних молекул, які конкурують за той самий епітоп, означає конкуренцію між антигензв'язувальними молекулами, як визначено в аналізі, у якому тестована антигензв'язувальна молекула (наприклад, антитіло або її імунологічно функціональний фрагмент) попереджає або інгібує (наприклад, знижує) специфічне зв'язування зазначеної антигензв'язувальної молекули з антигеном. Можуть застосовуватися різні типи аналізів конкурентного зв'язування для визначення того, чи конкурує антигензв'язувальна молекула з іншою молекулою, наприклад: прямий або непрямий радіоімунологічний аналіз твердої фази (RIA), прямий або непрямий ферментний імунологічний аналіз твердої фази (EIA), аналіз багаточислової конкуренції (Stahli зі співавт., 1983, *Methods in Enzymology* 9:242-253); прямий біотин-авідиновий EIA твердої фази (Kirkland зі співавт., 1986, *J. Immunol.* 137:3614-3619), прямий аналіз із міткою твердої фази, прямий багаточисловий аналіз із міткою твердої фази (Harlow and Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); прямий RIA твердої фази із міткою застосуванням 1-125 міток (Morel зі співавт., 1988, *Molec. Immunol.* 25:7-15); прямий біотин-авідиновий EIA твердої фази (Cheung, зі співавт., 1990, *Virology* 176:546-552); та прямий RIA з міткою (Moldenhauer зі співавт., 1990, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82). Термін "епітоп" включає будь-яку детермінанту, здатну зв'язуватися з антигензв'язувальною молекулою, наприклад, scFv, антитіло або імунна клітина за даним винаходом. Епітоп являє собою область антигена, яка зв'язується з антигензв'язувальною молекулою, націленою на даний антиген, та антиген являє собою білок, що включає певні амінокислоти, які безпосередньо контактують з антигензв'язувальною молекулою.

Застосовані у даному документі терміни "мітка" або "мічений" стосуються введення детектованого маркера, наприклад, шляхом уведення міченої радіоізотопами амінокислоти або прикріплення до поліпептиду біотинових фрагментів, які можуть бути виявлені за допомогою відміченого авідину (наприклад, стрептавідину, який містить флюоресцентний маркер, або ферментативної активності, яка може бути виявлена шляхом оптичних або колориметричних способів). У деяких варіантах здійснення мітка або маркер також можуть бути терапевтичними. Різні способи нанесення міток на поліпептиди та глікопротеїни відомі в даній галузі та можуть бути застосовані.

Відповідно до даного винаходу тип "увімкнено-вимкнено" або інші типи методики контрольного перемикавання можуть бути включені в даний документ. Данні методики можуть передбачати застосування доменів димеризації та необов'язкових активаторів такої димеризації доменів. Данні методики включають, наприклад, методики, описанні Wu зі співавт., *Science* 2014 350 (6258) із застосуванням систем димеризації FKBP/Rapalog у певних клітинах, при цьому зміст статті включено в даний документ шляхом посилання у свій свій повноті. Додаткова технологія димеризації описана, наприклад, у Fegan зі співавт. *Chem. Rev.* 2010, 110, 3315-3336, а також у Патентах США №№ 5830462; 5834266; 5869337 та 6165787, вміст яких також включено в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті. Додаткові пари димеризації можуть включати циклоспорин-А/циклофілін, рецептор, естроген/естрогеновий рецептор (необов'язково із застосуванням тамоксифену), глюкокортикоїд/глюкокортикоїдний рецептор, тетрациклін/тетрацикліновий рецептор, вітамін D/рецептор вітаміну D. Наступні приклади технології димеризації можна знайти, наприклад, у WO 2014/127261, WO 2015/090229, US 2014/0286987, US 2015/0266973, US 2016/0046700, Патенті США № 8486693, US 2014/0171649 та US 2012/0130076, вміст яких також включено в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті.

Способи лікування

Із застосуванням адоптивної імунотерапії вихідні Т-клітини можуть бути (i) видалені у пацієнта, (ii) створені методами генної інженерії для експресії химерного антигенного рецептора (CAR), який зв'язується щонайменше з одним антигеном пухлини або (iii) розширені ex vivo у більшу популяцію розроблених Т-клітин, та (iv) повторно введені пацієнту. Див., наприклад, Патенти США №№ 7741465 та 6319494, Eshhar зі співавт. (*Cancer Immunol.* вказано вище); Krause зі співавт. (вказано вище); Finney зі співавт. (вказано вище). Після того, як розроблені Т-клітини повторно вводять пацієнту, вони опосередковують імунну відповідь по відношенню до клітин, які експресують антиген пухлини. Див., наприклад, Krause зі співавт., *J. Exp. Med.*, Том 188, No. 4, 1998 (619-626). Дана імунна відповідь включає секрецію IL-2 та інших цитокінів Т-клітинами, клональну експансію Т-клітин, які розпізнають антиген пухлини та опосередковане Т-клітинами специфічне знищення мішень-позитивних клітин. Див. Hombach зі співавт., *Journal of Immunol.* 167: 6123-6131 (2001).

Отже, у деяких аспектах даний винахід включає спосіб лікування або попередження стану,

зв'язаного з небажаними та/або підвищеними рівнями FLT3 у пацієнта, який включає введення пацієнту, який цього потребує, ефективної кількості щонайменше одної виділеної антигензв'язувальної молекули, CAR або TCR, розкритих у даному документі.

Представлені способи для лікування захворювань або порушень, в тому числі раку. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується створення опосередкованої Т-клітинами імунної відповіді у суб'єкта, яке включає введення суб'єкту ефективної кількості розроблених імунних клітин за даною заявкою. У деяких варіантах здійснення опосередкована Т-клітинами імунна відповідь спрямована проти клітин-мішеней або клітин. У деяких варіантах здійснення розроблена імунна клітина містить химерний антигенний рецептор (CAR) або Т-клітинний рецептор (TCR). У деяких варіантах здійснення клітина-мішень являє собою клітину пухлини. У деяких аспектах даний винахід включає спосіб лікування або попередження утворення злоякісної пухлини, при цьому указаний спосіб включає введення суб'єкту, що потребує цього, ефективної кількості щонайменше однієї виділеної антигензв'язувальної молекули, описаної у даному документі. У деяких аспектах даний винахід містить спосіб лікування або попередження утворення злоякісної пухлини, при цьому указаний спосіб включає введення суб'єкту, що потребує цього, ефективної кількості щонайменше однієї імунної клітини, де імунна клітина містить щонайменше один химерний антигенний рецептор, Т-клітинний рецептор та/або виділеної антигензв'язувальної молекули, як описано у даному документі.

У деяких аспектах даний винахід включає фармацевтичну композицію, яка містить щонайменше одну антигензв'язувальну молекулу, як описано в даному документі, та фармацевтично прийнятний допоміжний засіб. У деяких варіантах здійснення фармацевтична композиція додатково містить додатковий активний засіб.

Антигензв'язувальні молекули, CAR, TCR, імунні клітини тощо за даним винаходом можуть застосовуватися для лікування мієлоїдних захворювань, в тому числі без обмеження гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ), хронічний мієлогений лейкоз (СМЛ), хронічний мієломоноцитарний лейкоз (СММЛ), ювенільний мієломоноцитарний лейкоз, атиповий хронічний мієлоїдний лейкоз, гострий промієлоцитний лейкоз (APL), гострий монобластний лейкоз, гострий еритроїдний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, мієлодиспластичний синдром (MDS), мієлопролиферативне порушення, мієлоїдне новоутворення, мієлоїднусаркому, або їх комбінацій. Додаткові захворювання включають запальні та/або аутоімунні захворювання, наприклад, ревматоїдний артрит, псоріаз, види алергії, астму, хворобу Крона, IBD, IBS, фіброміалгію, мастоцитоз та глютену ентеропатію.

Слід розуміти, що цільові дози для CAR⁺/ CAR-T⁺/ TCR⁺-клітин можуть варіювати в діапазоні 1×10^6 - 2×10^{10} клітин/кг, переважно 2×10^6 клітин/кг, більш переважно. Слід розуміти, що дози вище та нижче даного діапазону можуть бути придатні для певних суб'єктів, та придатні рівні дози за необхідності можуть бути визначені лікарем. Крім того, можуть бути представлені декілька доз клітин відповідно до даного винаходу.

Також представлені способи зменшення розміру пухлини у суб'єкта, що включають введення суб'єкту розробленої клітини за даним винаходом, де клітина включає химерний антигенний рецептор, Т-клітинний рецептор або Т-клітинний рецептор на основі химерного антигенного рецептора, який містить антигензв'язувальну молекулу, що зв'язується з антигеном пухлини. У деяких варіантах здійснення у суб'єкта спостерігається солідна пухлина або злоякісна пухлина крові, наприклад, лімфома або лейкоз. У деяких варіантах здійснення розроблена клітина доставляється в ложе пухлини. У деяких варіантах здійснення рак присутній у кістковому мозку суб'єкта.

У деяких варіантах здійснення розроблені клітини являють собою аутологічні Т-клітини. У деяких варіантах здійснення розроблені клітини являють собою аллогенні Т-клітини. У деяких варіантах здійснення розроблені клітини являють собою гетерологічні Т-клітини. У деяких варіантах здійснення розроблені клітини за даною заявкою трансфіковані або перетворені *in vivo*. У деяких варіантах здійснення розроблені клітини за даною заявкою трансфіковані або перетворені *ex vivo*.

Способи можуть додатково включати введення одного або декількох хіміотерапевтичних засобів. У деяких варіантах здійснення хіміотерапевтичний засіб являє собою хіміотерапевтичні засоби, що знижують функцію лімфоцитів (що попередньо адаптують). Переважні схеми попереднього лікування, разом з відповідними перевагами біомаркерами, описані у Попередніх заявках на патент 62/262143 та 62/167750, які включені в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті. В них описані, наприклад, способи адаптації пацієнта, що потребує Т-клітинної терапії, які включають введення пацієнту певних переважних доз циклофосфаміду (від 200 мг/м²/доба до 2000 мг/м²/доба) та певних доз флударабіну (від 20 мг/м²/доба до 900 мг/м²/доба). Переважна схема дозування включає лікування пацієнта, що передбачає щоденне

введення пацієнту приблизно 500 мг/м² на добу циклофосфаміду та приблизно 60 мг/м² на добу флударабіну протягом трьох днів перед уведенням пацієнту терапевтично ефективної кількості розроблених Т-клітин.

В інших варіантах здійснення кожне з антигензв'язувальної молекули, перетворених (або інакше розроблених) клітин (наприклад, CAR або TCR) та хіміотерапевтичного засобу вводять у кількості, ефективній для лікування захворювання або стану у суб'єкта.

У деяких варіантах здійснення композиції, які містять CAR-експресуючі імунні ефektorні клітини, розкриті в даному документі, можна вводити разом з будь-яким числом хіміотерапевтичних засобів. Приклади хіміотерапевтичних засобів включають алкілюючі засоби, такі як тіотепа та циклофосфамід (CYTOXAN™); алкілсульфонати, такі як бусульфат, імпротульфат та піпосульфат; азаридини, такі як бензодопа, карбоксон, метуредопа та уредопа; етиленіміни та метиламеламіни, в тому числі альтретамін, триетиленмеламін, триетиленфосфорамід, триетилентіофосфороамід та триметиллоломеламін; азотисті іприти, такі як хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамід, естрамуцин, іфосфамід, мехлоретамін, мехлоретамін оксид гідроклорид, мелфалан, новембіхін, фенестерин, преднімустин, трофосфамід, урамустин; нітрозосечовини, такі як кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, німустин, ранімустин; антибіотики, такі як аклациноміцини, активноміцин, аутраміцин, азасерин, блеомицини, кактиноміцин, каліхіміцин, карабіцин, карміноміцин, карцинофілін, хромоміцини, дактиноміцини, даунорубіцин, деторубіцин, 6-діазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубіцин, епірубіцин, есорубіцин, ідарубіцин, марцеломіцин, мітоміцини, мікофенолова кислота, ногаламіцин, оливоміцини, пепломіцини, потфіроміцин, пуроміцин, квеламіцин, родорубіцин, стрептонігрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циносатин, зорубіцин; інгібітори обміну речовин, такі як метотрексат та 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолієвої кислоти, такі як деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурину, такі як флударабін, 6-меркаптопурин, тіаміпрін, тіогуанін; аналоги піримідину, такі як анцитабін, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабін, дидеоксиуридин, доксифлуридин, еноцитабін, флоксуридин, 5-FU; андрогени, такі як калустерон, пропіонат дромостанолону, епітіостанол, мепітіостан, тестолактон; засоби, що пригнічують функції наднирників, такі як аміноглутетимід, мітотан, трилостан; компенсатор фолієвої кислоти, такий як фролінова кислота; ацеглатон; альдофосфамід глікозид; амінолевулінова кислота; амсакрин; бестрабуцил; бісантрен; едотраксат; дефотамін; демеколцин; діазиквон; елформітин; елліптинію ацетат; етоглуцид; нітрат галлію; гідроксисечовина; лентинан; лонідамін; мітогуазон; мітоксантрон; мопідамол; нітракрин; пентосатин; фенамет; пірарубіцин; подофіллінова кислота; 2-етилгідразин; прокарбазин; PSK®; разоксан; сизофіран; спірогерманій; тенуазонова кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриетиламін; уретан; віндезин; дакарбазин; манномустин; мітобронітол; мітолактол; піпоброман; гацитозин; арабінозид ("Ara-C"); циклофосфамід; таксани, наприклад, паклітаксел (TAXOL™, Bristol-Myers Squibb) та дексетаксел (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer); хлорамбуцил; гемцитабін; 6-тіогуанін; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платини, такі як цисплатин та карбоплатин; вінбластин; платина; етопозид (VP-16); іфосфамід; мітоміцин С; мітоксантрон; вінкрисдин; вінорелбін; навелбін; новатрон; теніпозид; дауноміцин; аміноптерин; кселода; ібандронат; CPT-11; інгібітор топоізомерази RFS2000; дифторметилорнітин (DMFO); похідні ретиноїдної кислоти, такі як Targretin™ (бексаротен), Panretin™, (алітретиноїн); ONTAK™ (денілейкін дифтитокс); еспераміцини; капецитабін; та фармацевтично прийнятні солі, кислоти або похідні будь-якого з наведеного вище. Також у дане визначення включені протигормональні засоби, що діють для регулювання або інгібування дії гормонів відносно пухлини, наприклад, антиестрогени, в тому числі, наприклад, тамоксифен, ралоксифен, 4(5)-імідазоли, що інгібують ароматазу, 4-гідрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон та тореміфен (Фарестон); та антиандрогени, такі як флутамід, нілутамід, бікалутамід, лейпролід та гoserелін; та фармацевтично прийнятні солі, кислоти або похідні будь-якого з наведеного вище. За необхідності також вводять комбінації хіміотерапевтичних засобів, в тому числі без обмеження CHOP, тобто, циклофосфамід (Цитоксан®), доксорубіцин (гідроксидоксорбіцин), вінкрисдин (Онковин®) та преднізон.

У деяких варіантах здійснення хіміотерапевтичний засіб вводять одночасно або протягом тижня після уведення розробленої клітини або нуклеїнової кислоти. В інших варіантах здійснення хіміотерапевтичний засіб вводять від 1 до 4 тижнів або від 1 тижня до 1 місяця, від 1 тижня до 2 місяців, від 1 тижня до 3 місяців, від 1 тижня до 6 місяців, від 1 тижня до 9 місяців або від 1 тижня до 12 місяців після уведення розробленої клітини або нуклеїнової кислоти. В інших варіантах здійснення хіміотерапевтичний засіб вводять щонайменше за 1 місяць до уведення клітини або нуклеїнової кислоти. У деяких варіантах здійснення способи додатково включають введення двох або більше хіміотерапевтичних засобів.

Велику кількість додаткових терапевтичних засобів можна застосовувати разом із композиціями, описаними у даному документі. Наприклад, потенційно придатні додаткові терапевтичні засоби включають інгібітори PD-1, такі як ніволумаб (Opdivo®), пембролізумаб (Keytruda®), пембролізумаб, підилізумаб та атезолізумаб.

Додаткові терапевтичні засоби, придатні для застосування в комбінації із даним винаходом, включають без обмеження ібрутиніб (Imbruvica®), офатумумаб (Arzerra®), ритуксимаб (Rituxan®), бевацизумаб (Avastin®), трастузумаб (Herceptin®), трастузумаб емастатин (KADCYLA®), іматиніб (Gleevec®), цетуксимаб (Erbix®), панітумумаб (Vectibix®), катумаксомаб, ібритумомаб, офатумумаб, тозитумомаб, брентуксимаб, алемтузумаб, гемтузумаб, ерлотиніб, гефітиніб, вандетаніб, афатиніб, лапатиніб, нератиніб, акситиніб, маситиніб, пазопаніб, сунитиніб, сорафеніб, тоцераніб, лестауртиніб, акситиніб, цедираніб, ленватиніб, нинтенданіб, пазопаніб, регорафеніб, семаксаніб, сорафеніб, сунитиніб, тивозаніб, тоцераніб, вандетаніб, ентректиніб, кабозантиніб, іматиніб, дасатиніб, нілотиніб, понатиніб, радотиніб, босутиніб, лестауртиніб, руксолітиніб, пакритиніб, кобиметиніб, селуметиніб, траметиніб, біниметиніб, алектиніб, церитиніб, кризотиніб, афліберцепт, адипотид, денілейкін дифтитокс, mTOR-інгібітори, такі як Еверолімус та Темсиролімус, інгібітори сигнального шляху Hedgehog, такі як сонідеріб та вісмодеріб, інгібітори CDK, такі як інгібітор CDK (палбоцикліб).

У додаткових варіантах здійснення композицію, яка містить імунну клітину, що містить CAR, можна вводити з протизапальним засобом. Протизапальні засоби або лікарські засоби включають без обмеження стероїди та глюкокортикоїди (в тому числі бетаметазон, будесонід, дексаметазон, гідрокортизону ацетат, гідрокортизон, метилпреднізолон, преднізолон, преднізон, триамцинолон), нестероїдні протизапальні лікарські засоби (NSAID), в тому числі аспірин, ібупрофен, напроксен, метотрексат, сульфасалазин, лефлуномід, лікарські засоби проти TNF, циклофосфамід та мікофенолат. Ілюстративні NSAID включають ібупрофен, напроксен, напроксен натрію, інгібітори Cox-2 та сіалілати. Ілюстративні знеболюючі засоби включають ацетамінофен, оксикодон, трамадол або пропоксифен гідрохлорид. Ілюстративні глюкокортикоїди включають кортизон, дексаметазон, гідрокортизон, метилпреднізолон, преднізолон або преднізон. Ілюстративні модифікатори біологічної відповіді включають молекули, направлені проти маркерів поверхні клітини (наприклад, CD4, CD5 тощо), інгібіторів цитокіну, наприклад, антагоністів TNF (наприклад, етанерцепт (ENBREL®), адалімумаб (HUMIRA®) та інфліксимаб (REMICADE®), інгібітори хемокіну та інгібітори адгезійної молекули. Модифікатори біологічної відповіді включають моноклональні антитіла, рекомбінантні форми молекул. Ілюстративні DMARD включають азатіоприн, циклофосфамід, циклоспорин, метотрексат, пеніцилламін, лефлуномід, сульфасалазин, гідроксихлорохін, золото (для перорального (ауранофін) та внутрішньом'язового введення) та міноциклін.

У деяких варіантах здійснення композиції, описані в даному документі, вводять разом з цитокіном. Застосований у даному документі "цитокін" призначений для позначення білків, які вивільнюються однією популяцією клітин, що діють на іншу клітину як міжклітинні медіатори. Прикладами цитокінів є лімфокіни, монокіни та звичайні поліпептидні гормони. Окрім цитокінів включені гормони росту, такі як гормон росту людини, N-метіоніловий гормон росту людини та бичачий гормон росту; паратіреодний гормон; тіроксин; інсулін; проінсулін; релаксин; прорелаксин; глікопротеїнові гормони, такі як фолікулостимулюючий гормон (FSH), тіреотропний гормон (TSH) та лютеїнізуючий гормон (LH); фактор росту печінки (HGF); фактор росту фібробластів (FGF); пролактин; плацентарний лактоген; мюллерівська інгібувальна субстанція; пептид, пов'язаний із гонадотропіном миші; інгібін; активін; фактор росту ендотелію судин; інтегрин; тромбopoетин (TPO); фактори росту нервів (NGF), такі як NGF-бета; фактор росту тромбоцитів; трансформуючі фактори росту (TGF), такі як TGF-альфа та TGF-бета; інсуліноподібний фактор росту-I та -II; еритропоетин (EPO); остеіндуктивні фактори; інтерферони, такі як інтерферон-альфа, бета та -гамма; колонієстимулюючі фактори (CSF), такі як макрофаг-CSF (M-CSF); гранулоцит-макрофаг-CSF (GM-CSF); та гранулоцит-CSF (G-CSF); інтерлейкіни (IL), такі як IL-1, IL-1-альфа, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, фактор некрозу пухлини, такий як TNF-альфа або TNF-бета; та інші поліпептидні фактори, в тому числі LIF та комплекти ліганд (KL). Застосований у даному документі термін цитокін включає білки з природних джерел або з рекомбінантної клітинної культури, та біологічно активні еквіваленти цитокінів вихідної послідовності.

У деяких аспектах даний винахід включає антигензв'язувальну молекулу, яка зв'язується з FLT3 при K_d менше 100 пМ. У деяких варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула зв'язується при K_d менше 10 пМ. В інших варіантах здійснення антигензв'язувальна молекула зв'язується при K_d менше 5 пМ.

Способи одержання

Для одержання полінуклеотидів може застосовуватися безліч методик, поліпептидів, векторів, антигензв'язувальних молекул, імунних клітин, композицій тощо за даним винаходом.

Перед керуванням або генетичною модифікацією *in vitro* імунних клітин, описаних у даному документі, клітини можуть бути одержані у суб'єкта. У деяких варіантах здійснення імунні клітини включають Т-клітини. Т-клітини можуть бути одержані з низки джерел, в тому числі моноклеарних клітин периферійної крові (PBMC), кісткового мозку, тканини лімфатичних вузлів, пуповинної крові, тканини виличкової залози, тканини області інфекції, асцитів, плеврального випоту, тканини селезінки та пухлин. У деяких варіантах здійснення Т-клітини можуть бути одержані з одиниці крові, зібраної у суб'єкта із застосуванням низки методик, відомих спеціалісту у даній галузі, наприклад, відокремленням FICOLL™. Клітини можуть бути переважно одержані з циркулюючої крові індивіда шляхом аферезу. Продукт аферезу зазвичай містить лімфоцити, в тому числі Т-клітини, моноцити, гранулоцити, В-клітини, інші утворені ядром білі клітини крові, еритроцити та тромбоцити. У деяких варіантах здійснення клітини, зібрані шляхом аферезу, можуть бути промиті для видалення фракції плазми та поміщені у відповідний буфер або середовище для подальшої обробки. Клітини можуть бути промиті за допомогою PBS. Як буде зрозуміло, можна застосовувати стадію промивки, наприклад, із застосуванням напівавтоматичної проточної центрифуги, наприклад, клітинного процесора Cobe™ 2991, Baxter CytoMate™ або подібних. Після промивання клітини можуть бути повторно суспендовані у різних біопорівняних буферах або іншому сольовому розчині з буфером або без нього. У деяких варіантах здійснення небажані компоненти зразка для аферезу можуть бути видалені.

У деяких варіантах здійснення Т-клітини виділяють з PBMC шляхом руйнування еритроцитів та зниження функції моноцитів, наприклад, із застосуванням центрифугування через градієнт PERCOLL™. Конкретна субпопуляція Т-клітин, наприклад, CD28⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ та CD45RO⁺-Т-клітини можуть бути додатково виділені шляхом методик позитивної або негативної селекції, відомих у даній галузі. Наприклад, збагачення популяції Т-клітин шляхом негативної селекції може бути досягнуто із комбінацією антитіл, направлених на поверхневі маркери, унікальні для негативно вибраних клітин. Один спосіб для застосування у даному документі являє собою сортування та/або селекцію клітин шляхом негативної магнітної імуноадгезії або проточної цитометрії, у яких застосовують суміш моноклональних антитіл, направлених на маркери поверхні клітини, присутні на негативно вибраних клітинах. Наприклад, для збагачення клітин CD4⁺ шляхом негативної селекції, суміш моноклональних антитіл зазвичай включає антитіла до CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR та CD8. Проточну цитометрію та сортування клітин також можна застосовувати для виділення популяції клітин, що представляють інтерес для застосування за даним винаходом.

PBMC можуть застосовуватися безпосередньо для генетичної модифікації з імунними клітинами (наприклад, CAR або TCR) із застосуванням способів, описаних у даному документі. У деяких варіантах здійснення після виділення PBMC Т-лімфоцити можуть бути додатково виділені, та як цитотоксичні, так і хелперні Т-лімфоцити можуть бути розсортовані на первинні, запам'ятовувальні та ефекторні субпопуляції Т-клітин, або до, або після генетичної модифікації та/або експансії.

У деяких варіантах здійснення клітини CD8⁺ додатково розсортовані на первинні, центральні запам'ятовувальні та ефекторні клітини шляхом ідентифікації антигенів клітинної поверхні, які зв'язані з кожним з даних типів клітин CD8⁺. У деяких варіантах здійснення експресія фенотипічних маркерів центральних запам'ятовувальних Т-клітин включає CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3, та CD127 та негативна для гранзиму В. У деяких варіантах здійснення центральні запам'ятовувальні Т-клітини являють собою CD45RO⁺, CD62L⁺, CD8⁺-Т-клітини. У деяких варіантах здійснення ефекторні Т-клітини негативні для CD62L, CCR7, CD28 та CD127, та позитивні для гранзиму В та перфорину. У деяких варіантах здійснення CD4⁺-Т-клітини додатково розсортовані на субпопуляції. Наприклад, хелперні CD4⁺-Т-клітини можуть бути розсортовані на первинні, центральні запам'ятовувальні та ефекторні клітини шляхом ідентифікації популяцій клітин, які мають антигени клітинної поверхні.

Імунні клітини, такі як Т-клітини, можуть бути генетично модифіковані після виділення із застосуванням відомих способів, або імунні клітини можуть бути активовані та розширені (або диференційовані у випадку попередників) *in vitro* перед генетичною модифікацією. В іншому варіанті здійснення імунні клітини, такі як Т-клітини, генетично модифіковані химерними антигенними рецепторами, описаними у даному документі (наприклад, перетвореними вірусним вектором, які містять одну або декілька нуклеотидних послідовностей, що кодують CAR), а потім активовані та/або розширені *in vitro*. Способи активації та розширення Т-клітин відомі у даній галузі та описані, наприклад, у Патенті США № 6905874; Патенті США № 6867041; Патенті США

№ 6797514; та PCT WO 2012/079000, зміст яких включено в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті. Як правило, такі способи включають приведення у контакт РВМС або виділених Т-клітин зі стимулюючим засобом та костимулюючим засобом, наприклад, антитілами к CD3 та CD28, як правило, прикріпленим до гранули або іншої поверхні, в культуральному середовищі з відповідними цитокінами, таким як IL-2. Антитіла до CD3 та CD28, прикріплені до тієї самої гранули, виступають як клітини, що представляють "сурогатний" антиген (APC). Одним прикладом є система The Dynabeads®, система стимулятора/активатора CD3/CD28 для фізіологічної активації людських Т-клітин.

В інших варіантах здійснення Т-клітини можуть бути активовані та стимульовані для проліферації з живильними клітинами та відповідними антитілами та цитокінами із застосуванням таких способів, як описані в Патенті США № 6040177; Патенті США № 5827642; та WO 2012129514, зміст яких включено в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті.

Деякі способи одержання конструкцій та розроблених імунних клітин за даним винаходом описані в Заявці PCT PCT/US15/14520, зміст якої включено в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті. Додаткові способи одержання конструкцій та клітин можуть бути знайдені у Попередній заявці на патент США № 62/244036, зміст якої включено в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті.

Слід розуміти, що РВМС можуть додатково включати інші цитотоксичні лімфоцити, такі як NK-клітини або NKT-клітини. Вектор експресії, що несе кодуючу послідовність химерного рецептора, розкритого в даному документі, може бути введений у популяцію Т-клітин, NK-клітин або NKT-клітин донора-людини. Успішно перетворені Т-клітини, що несуть вектор експресії, можуть бути відсортовані із застосуванням проточної цитометрії для виділення CD3-позитивних Т-клітин, а потім додатково розмножені для підвищення числа даних Т-клітин, які експресують CAR, окрім активації клітин із застосуванням антитіл до CD3 та IL-2 або інших способів, відомих у даній галузі, як описано в будь-якому іншому місці даного документа. Для кріоконсервування Т-клітин, які експресують CAR, для зберігання та/або одержання з метою застосування по відношенню до суб'єкта-людини можуть застосовуватися стандартні процедури. В одному варіанті здійснення перетворення *in vitro*, культивування та/або експансію Т-клітин здійснюють за відсутності утвореними з тваринних джерел продуктів, що не є людськими, таких як ембріональна теляча сироватка та фетальна бичача сироватка.

Для клонування полінуклеотидів вектор можна вводити у клітину-хазяїна (виділену клітину-хазяїна) для забезпечення реплікації вектора самого по собі та, таким чином, ампліфікації копій полінуклеотиду, який міститься в ньому. Клонуючі вектори можуть містити компоненти послідовності, які зазвичай включають без обмеження джерело реплікації, промоторні послідовності, промотори ініціації транскрипції, енхансерні послідовності та селективні маркери. Данні елементи можуть бути вибрані відповідним чином спеціалістом у даній галузі. Наприклад, джерело реплікації може бути вибраний для сприяння автономній реплікації вектора в клітині-хазяїні.

У деяких варіантах здійснення в даному розкритті представлені виділені клітини-хазяїни, які містять вектор, представлений у даному документі. Клітини-хазяїни, які містять вектор, можуть бути придатні в експресії або клонуванні полінуклеотиду, який міститься у векторі. Придатні клітини-хазяїни можуть включати без обмеження прокаріотичні клітини, грибові клітини, дріжджові клітини або вищі еукаріотичні клітини, наприклад, клітини ссавця. Придатні прокаріотичні клітини для даної мети включають без обмеження еубактерії, такі як грамнегативні або грампозитивні бактерії організми, наприклад, Enterobacteriaceae, такі як Escherichia, наприклад, E. coli, Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, наприклад, Salmonella typhimurium, Serratia, наприклад, Serratia marcescans, та Shigella, а також Bacilli, такі як B. subtilis та B. licheniformis, Pseudomonas, такі як P. aeruginosa, та Streptomyces.

Вектор можна вводити в клітину-хазяїна із застосуванням будь-яких придатних способів, відомих у даній галузі, в тому числі без обмеження DEAE-декстран-опосередкована доставка, спосіб осадження фосфату кальцію, опосередкована катіонними ліпідами доставка, опосередкована ліпосомами трансфекція, електропорація, бомбардування мікročастками, рецептор-опосередкована генна доставка, доставка, опосередкована полілізином, гістоном, хітозаном та пептидами. Стандартні способи трансфекції та трансформації клітин для експресії вектора, що представляє інтерес, добре відомі у даній галузі. У наступному варіанті здійснення суміш різних векторів експресії для генетичної модифікації донорної популяції імунних ефекторних клітин, де кожен вектор кодує різний CAR, розкритий у даному документі. Одержані в результаті перетворені імунні ефекторні клітини утворюють змішану популяцію розроблених клітин, з часткою розроблених клітин, які

експресують більше одного різного CAR.

В одному варіанті здійснення в даному винаході представлений спосіб зберігання створених методами генної інженерії клітин, які експресують CAR або TCR, що націлені на білок FLT3. Він передбачає кріоконсервацію імунних клітин, так що клітини залишаються життєздатними після відтавання. Доля імунних клітин, які експресують CAR, може бути кріоконсервована шляхом способів, відомих у даній галузі, для забезпечення постійного джерела таких клітин для майбутнього лікування пацієнтів, що страждають на злоякісне новоутворення. За необхідності кріоконсервовані трансформовані імунні клітини можуть бути відтануті, вирощені та розширені для більшої кількості таких клітин.

Застосовані у даному документі термін "кріоконсервувати" стосується консервації клітин шляхом охолодження до температур нижче нуля, наприклад, (як правило) 77 K або -196 °C (температура кипіння рідкого азоту). За температурах нижче нуля найчастіше застосовують кріозахисні засоби для попередження пошкодження консервованих клітин внаслідок заморозки при низьких температурах або нагрівання до кімнатної температури. Кріоконсервувальні засоби та оптимальні швидкості охолодження можуть захистити клітини від пошкодження. Кріозахисні засоби, які можна застосовувати відповідно до даного винаходу, включають без обмеження диметил сульфоксид (DMSO) (Lovelock & Bishop, Nature (1959); 183: 1394-1395; Ashwood-Smith, Nature (1961); 190: 1204-1205), гліцерин, полівінілпірролідин (Rinfret, Ann. N.Y. Acad. Sci. (1960); 85: 576) та поліетиленгліколь (Sloviter & Ravdin, Nature (1962); 196: 48). Переважна швидкість охолодження становить 1-3 °C/хвилина.

Термін "по суті чистий" застосовують для зазначення, що приведений компонент присутній при високому рівні. Компонент переважно являє собою головний компонент, присутній в композиції. Переважно він присутній на рівні більше 30 %, більше 50 %, більше 75 %, більше 90 % або навіть більше 95 %, при цьому вказаний рівень визначений у перерахуванні на суху вагу/суху вагу відносно загальної ваги розглянутої композиції. Занадто високих рівнів (наприклад, при рівнях більше 90 %, більше 95 % або більше 99 %) компонент може розглядатися як той, що знаходиться у "чистій формі". Біологічно активні речовини за даним винаходом (в тому числі поліпептиди, молекули нуклеїнових кислот, антигензв'язувальні молекули, фрагменти) можуть бути представлені у формі, яка по суті не містить один або декілька забруднювачів, з якими речовина може бути зв'язана в інших випадках. Якщо композиція по суті не містить даний забруднювач, то забруднювач буде на низькому рівні (наприклад, на рівні менше 10 %, менше 5 % або менше 1 % у перерахуванні на суху вагу/суху вагу, як вказано вище).

У деяких варіантах здійснення клітини складені шляхом першого їх збору з їхнього культурального середовища, а потім промивання та концентрації клітин в середовищі та системі зберігання, придатній для введення ("фармацевтично прийнятний" носій) в ефективний для лікування кількості. Придатне середовище для інфузій може являти собою будь-який ізотонічний розчин середовища, як правило, фізіологічний розчин, Normosol™ R (Abbott) або Plasma-Lyte™ A (Baxter), але також можуть застосовуватися 5 % декстрази у воді або лактат Рінгера. Середовище для інфузій може бути доповнено людським сироватковим альбуміном.

Необхідні для лікування кількості клітин в композиції зазвичай становлять щонайменше 2 клітини (наприклад, щонайменше 1 CD8⁺ центральна запам'ятовувальна Т-клітина та щонайменше 1 CD4⁺ Т-клітина хелперної субпопуляції), або більш типово становлять більше 10² клітин, та не більше 10⁶, не більше 10⁸ або 10⁹ клітин включно та можуть становити більше 10¹⁰ клітин. Кількість клітин буде залежати від необхідного застосування, для якого призначена композиція, та типу клітин, включених в даний документ. Щільність необхідних клітин зазвичай перевищує 10⁶ клітин/мл та, як правило, перевищує 10⁷ клітин/мл, як правило, 10⁸ клітин/мл або більше. Клінічно придатна кількість імунних клітин може бути розділена на декілька інфузій, які сумарно дорівнюють або перевищують 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹, 10¹⁰, 10¹¹ або 10¹² клітин. В деяких аспектах даного винаходу, зокрема оскільки всі введені клітини будуть перенаправлені до конкретного антигену-мішені (FLT3), можуть бути введені більш низькі кількості клітин, в діапазоні 10⁶/кг (10⁶-10¹¹ на пацієнта). Терапевтичні засоби CAR можуть бути введені декілька разів при дозуваннях в межах даних діапазонів. Клітини можуть бути автологічними, аллогенними або гетерологічними для пацієнта, що піддається лікуванню.

Популяції клітин, що експресують CAR, за даним винаходом можна вводити або окремо, або у вигляді фармацевтичної композиції в комбінації з розріджувачем та/або з іншими компонентами, наприклад, IL-2 або іншими цитокінами, або популяціями клітин. Фармацевтичні композиції за даним винаходом можуть містити популяцію клітин, що експресує CAR або TCR, наприклад, Т-клітин, як описано у даному документі, в комбінації з одним або декількома фармацевтично або прийнятними носіями, розріджувачами або допоміжними засобами. Такі

композиції можуть містити буфери, наприклад, нейтральний буферний розчин, фосфатно-буферний розчин тощо; вуглеводні, такі як глюкоза, манноза, сахароза або декстрини, манніт; білки; поліпептиди або амінокислоти, такі як гліцин; антиоксиданти; хелатні засоби, такі як EDTA або глутатіон; допоміжні засоби (наприклад, гідроксид алюмінію); та консерванти. Композиції за даним винаходом переважно складені для внутрішньовенного введення.

Фармацевтичні композиції (розчини, суспензії тощо) можуть включати одне або декілька з наступного: стерильні розріджувачі, такі як вода для ін'єкцій, сольовий розчин, переважно, фізіологічний розчин, розчин Рінгера, ізотонічний розчин хлориду натрію, нелеткі масла, такі як синтетичні моно- або дигліцериди, які можуть виступати як розчинники або суспендувальні середовища, поліетиленгліколи, гліцерин, пропіленгліколь або інші розчинники; антибактеріальні засоби, такі як бензиловий спирт або метилпарабен; антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота або бісульфіт натрію; хелатні засоби, такі як етилендіамінтетраоцтова кислота; буфери, такі як ацетати, цитрати або фосфати, та засоби для регулювання тонічності, такі як хлорид натрію або декстроза. Препарат для парентерального застосування може бути укладений в ампули, одноразові шприці або посудини для декількох доз зі скла або пластмаси. Ін'єкована фармацевтична композиція переважно є стерильною.

Слід розуміти, що небажані явища можуть бути зведені до мінімуму шляхом перетворення імунних клітин (що містять один або декілька CAR або TCR) з "суїцидальним" геном. Також може бути необхідним вводити в імунні клітини індукований перемикач "увімкнення" або "акселератор". Придатні методики включають застосування індукованої каспази-9 (Заявка на патент США 2011/0286980) або тимідинкінази до, після або одночасно з перетворенням клітин за допомогою конструкції CAR за даним винаходом. Додаткові способи введення "суїцидальних" генів та/або перемикачів "увімкнення" включають TALENS, застосування доменів "цинкові пальці", РНК-інтерференцію, міРНК, кшРНК, антисенсову технологію та інші методики, відомі у даній галузі.

Слід розуміти, що описи в даному документі є виключно ілюстративними та пояснювальними та не обмежують даний винахід, як заявлено у формулі винаходу. В даній заявці застосування форм однини включає множину, якщо явно не вказано інше.

Назви розділів, застосовані в даному документі, призначені виключно для цілей організації та не призначені для обмеження описаного об'єкта винаходу. Усі документи або частини документів, приведені в даній заявці, в тому числі без обмеження патенти, заявки на патент, статті, книги та наукові труди, включені в даний документ шляхом посилання у всій своїй повноті для будь-якої мети. Застосовані відповідно до даного розкриття наступні терміни, якщо не вказано інше, слід розуміти як такі, що мають наступне значення:

в даній заявці застосування "або" означає "та/або", якщо не вказано інше. Крім того, застосування терміну "в тому числі", а також інших форм, наприклад, "включає" та "включно", є необмежувальним. Крім того, такі терміни, як "елемент" або "компонент" охоплюють як елементи, так і компоненти, які містять одну одиницю та елементи та компоненти, які містять більше однієї субоддиниці, якщо конкретно не вказано інше.

Термін "активність FLT3" включає будь-який біологічний ефект FLT3. У деяких варіантах здійснення активність FLT3 включає здатність FLT3 взаємодіяти або зв'язуватися з субстратом або рецептором.

Термін "полінуклеотид", "нуклеотид" або "нуклеїнова кислота" включає як одноланцюгові, так і дволанцюгові нуклеотидні полімери. Нуклеотиди, що складають полінуклеотид, можуть являти собою рибонуклеотиди або дезоксирибонуклеотиди або модифіковану форму будь-якого типу нуклеотидів. Указані модифікації включають базові модифікації, такі як похідні бромуридину та інозину, модифікації рибози, такі як 2',3'-дідеоксирибоза, та модифікації міжнуклеотидних зв'язків, такі як фосфотіоат, фосфодітіоат, фосфоселеноат, фосфодиселеноат, фосфоанілотіоат, фосфоаніладат та фосфоамідат.

Термін "олігонуклеотид" стосується полінуклеотиду, що включає 200 або меншу кількість нуклеотидів. Олігонуклеотиди можуть бути одноланцюговими або дволанцюговими, наприклад, для застосування в конструкції мутантного гена. Олігонуклеотиди можуть являти собою змістові або антизмістові олігонуклеотиди. Олігонуклеотид може включати мітку, в тому числі радіоізотопну мітку, флюоресцентну мітку, гаптенову або антигенну мітку, для аналізу виявлення. Олігонуклеотиди можуть застосовуватися, наприклад, як праймери ПЦР, клонуючих праймерів або гібридаційних зондів.

Термін "контрольна послідовність" стосується полінуклеотидної послідовності, яка впливає на експресію та обробку кодуєчої послідовності, з якою вона зв'язується шляхом ліганду. Природа такої контрольної послідовності може залежати від організму-хазяїна. У конкретних варіантах здійснення контрольні послідовності для прокаріот можуть включати промотор,

рибосомну область зв'язування та послідовність термінації транскрипції. Наприклад, контрольні послідовності для еукаріот можуть включати промотори, які включають одну або багато областей розпізнавання для факторів транскрипції, енхансерних послідовностей транскрипції та послідовності термінації транскрипції. "Контрольні послідовності" можуть включати лідерні послідовності (сигнальні пептиди) та/або послідовності клітин, що зливаються.

Застосований у даному документі термін "функціонально зв'язаний" означає, що компоненти, до якого застосовується даний термін, знаходяться у зв'язку, яка дозволяє їм здійснювати властиві їм функції в придатних умовах.

Термін "вектор" означає будь-яку молекулу або частку (наприклад, нуклеїнову кислоту, плазмиду, бактеріофаг або вірус), застосовану для переносу інформації, що кодує білок, в клітину-хазяїна. Термін "вектор експресії" або "конструкція експресії" стосується вектора, який придатний для трансформації клітини-хазяїна та містить послідовності нуклеїнових кислот, які спрямовують та/або керують (разом з клітиною-хазяїном) експресією одного або декількох гетерологічних кодуючих областей, функціонально зв'язаних з ними. Конструкції експресії можуть включати без обмеження послідовності, які впливають або керують транскрипцією, трансляцією та, якщо присутні інтрони, впливом на сплайсинг РНК кодуючої області, функціонально зв'язаної з ними.

Термін "клітина-хазяїн" стосується клітини, яка була трансформована або здатна до трансформації, за допомогою послідовності нуклеїнової кислоти та таким чином експресує ген, що представляє інтерес. Термін включає потомство вихідної клітини, незалежно від того, чи є потомство ідентичним з точки зору морфології або генетичної конструкції оригінальної вихідної клітини або ні, оскільки присутній ген, що представляє інтерес.

Термін "трансформація" стосується зміни генетичних характеристик клітини, та клітина була трансформована, якщо вона була модифікована з можливістю вмісту нових ДНК або РНК. Наприклад, клітина трансформована, якщо вона генетично модифікована від її вихідного стану шляхом введення нового генетичного матеріалу шляхом трансфекції, перетворення або інших методик. Після трансфекції або перетворення трансформувальна ДНК може рекомбінуватися з ДНК клітини шляхом фізичної інтеграції в хромосому клітини, або може підтримуватися тимчасово як епісомальний елемент без реплікації, або може піддаватися реплікації незалежно у вигляді плазмиди. Клітина вважається "стабільно трансформованою", якщо трансформувальна ДНК піддається реплікації з розділенням клітини.

Термін "трансфекція" стосується поглинання клітиною чужорідної або екзогенної ДНК. Ряд методик трансфекції добре відомий в даній галузі та розкритий у даному документі. Див., наприклад, Graham зі співавт., 1973, *Virology* 52:456; Sambrook зі співавт., 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, вказано вище; Davis зі співавт., 1986, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier; Chu зі співавт., 1981, *Gene* 13:197.

Термін "перетворення" стосується процесу, у якому чужорідна ДНК уводиться в клітину шляхом вірусного вектора. Див. Jones зі співавт., (1998). *Genetics: principles and analysis*. Boston: Jones & Bartlett Publ.

Терміни "поліпептид" або "білок" стосуються макромолекули з амінокислотною послідовністю білка, в тому числі делеції, додавання та/або заміщення однієї або декількох амінокислот вихідної послідовності. Терміни "поліпептид" та "білок" конкретно охоплюють антигензв'язувальні молекули до FLT3, антитіла або послідовності, що мають делеції, додавання та/або заміщення однієї або декількох амінокислот антигензв'язувального білка. Термін "фрагмент поліпептиду" стосується поліпептиду, який має амінокінцеву делецію, карбоксильну кінцеву делецію та/або внутрішню делецію порівняно з повнорозмірним вихідним білком. Такі фрагменти також можуть містити модифіковані амінокислоти порівняно з вихідним білком. Придатні фрагменти поліпептидів включають імунологічно функціональні фрагменти антигензв'язувальних молекул. Придатні фрагменти включають без обмеження одну або декілька областей CDR, варіабельні домени важкого та/або легкого ланцюга, частину інших частин ланцюга антитіла тощо.

Термін "виділений" означає (i) той, що не містить щонайменше декілька інших білків, з якими він може зустрічатися в звичайних умовах, (ii) по суті не містить інших білків з того самого джерела, наприклад, від інших видів, (iii) відокремлений щонайменше від приблизно 50 % полінуклеотидів, ліпідів, вуглеводнів або інших матеріалів, з якими він зв'язаний в природних умовах, (iv) функціонально зв'язаний (шляхом ковалентної або нековалентної взаємодії) з поліпептидом, з яким він не зв'язаний в природних умовах, або (v) не зустрічається в природних умовах.

"Варіант" поліпептиду (наприклад, антигензв'язувальна молекула або антитіло) містить амінокислотну послідовність, у якій один або декілька амінокислотних залишків уведено

всередину, видалені з та/або заміщені в амінокислотній послідовності відносно іншої поліпептидної послідовності. Варіанти включають злиті білки.

Термін "ідентичність" стосується відношення між послідовностями двох або більше молекул поліпептидів або двох або більше молекул нуклеїнової кислоти, визначеного шляхом вирівнювання та порівняння послідовностей. "Відсоток ідентичності" означає відсоток ідентичних залишків між амінокислотами або нуклеотидами у порівнюваних молекулах та розраховується на основі розміру найменшої з порівнюваних молекул. Для даних розрахунків проміжки у вирівнюваннях (за наявності) переважно регулюються шляхом конкретної математичної моделі або комп'ютерної програми (тобто, "алгоритму").

Для розрахунку відсотка ідентичності порівнювані послідовності зазвичай вирівнюють за допомогою способу, який забезпечує найбільший збіг між послідовностями. Одним прикладом комп'ютерної програми, яку можна застосовувати для визначення відсотка ідентичності, є програмний пакет GCG, який включає GAP (Devereux зі співавт., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.). Комп'ютерний алгоритм GAP застосовується для вирівнювання двох поліпептидів або полінуклеотидів, для яких необхідно визначити відсоток ідентичності послідовності. Послідовності вирівнюються для оптимального збігу їх відповідної амінокислоти або нуклеотиду ("сукупність, що збіглася", визначена алгоритмом). У деяких варіантах здійснення стандартна матриця порівняння (див., Dayhoff зі співавт., 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 for the PAM 250 comparison matrix; Henikoff зі співавт., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 для матриці порівняння BLOSUM 62) також застосовується в алгоритмі.

Як застосовується у даному документі, 20 звичайних (наприклад, таких, що зустрічаються в природних умовах) амінокислот та їхніх скорочень слідує звичайному застосуванню. див. Immunology - A Synthesis (2-е видання, Golub and Gren, Eds., Sinauer Assoc., Sunderland, Mass. (1991)), включену в даний документ шляхом посилання для будь-яких цілей. Стереоізомери (наприклад, D-амінокислоти) 20 звичайних амінокислот, амінокислоти неприродного походження, такі як альфа-, альфа-дизаміщені амінокислоти, N-алкільні амінокислоти, молочна кислота та інші нетипові амінокислоти також можуть бути придатними компонентами для поліпептидів за даним винаходом. Приклади нетипових амінокислот включають наступні: 4-гідроксипролін, .гамма.-карбоксиглутамат, епсилон-N,N,N-триметиллізин, е-N-ацетиллізин, О-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формілметіонін, 3-метилгістидин, 5-гідроксилізин, .сигма.-N-метиларгінін та інші подібні амінокислоти та імінокислоти (наприклад, 4-гідроксипролін). У позначенні поліпептиду, що застосовується в даному документі, лівобічному напрямку являє собою аміно кінцевий напрямок, а правобічний напрямок являє собою карбоксильний кінцевий напрямок, відповідно стандартного застосування та умовностей.

Консервативні амінокислотні заміщення можуть охоплювати амінокислотні залишки, що не зустрічаються в природних умовах, які зазвичай вводять шляхом хімічного пептидного синтезу, аніж шляхом синтезу в біологічних системах. Вони включають пептидоміметики та інші перетворені або інвертовані форми фрагментів амінокислот. Залишки, що природним чином зустрічаються в природі, можливо розділити на класи, засновані на загальних властивостях бічного ланцюга:

- а) Гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- б) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- в) кислотні: Asp, Glu;
- г) основні: His, Lys, Arg;
- д) залишки, які впливають на орієнтацію ланцюга: Gly, Pro; та
- е) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

Наприклад, неконсервативні заміщення можуть передбачати заміну члена одного з даних класів на член іншого класу. Такі заміщені залишки можуть бути введені, наприклад, в області людського антитіла, гомологічні з антитілами, які не є людськими, або в негомологічні області молекули.

В здійсненні змін антигензв'язувальної молекули коstimулюючий або активуючий домени розробленої Т-клітини, відповідно до деяких варіантів здійснення, може розглядатися індекс гідрофобності. Кожній амінокислоті було присвоєно індекс гідрофобності на основі її гідрофобності та характеристик зміни. Вони являють собою наступні: ізолейцин (+4,5); валін (+4,2); лейцин (+3,8); фенілаланін (+2,8); цистеїн/цистин (+2,5); метіонін (+1,9); аланін (+1,8); гліцин (-0,4); треонін (-0,7); серин (-0,8); триптофан (-0,9); тірозин (-1,3); пролін (-1,6); гістидин (-3,2); глутамат (-3,5); глутамін (-3,5); аспартат (-3,5); аспарагін (-3,5); лізин (-3,9) та аргінін (-4,5). Див. Kyte зі співавт., J. Mol. Biol., 157:105-131 (1982). Відомо, що деякі амінокислоти можуть бути заміщені іншими амінокислотами з подібним індексом гідрофобності або балом та все ще

зберігають подібну біологічну активність. Також в даній області слід розуміти, що заміщення подібних амінокислот може ефективно здійснюватися на основі гідрофільності, зокрема, якщо біологічно функціональний білок або пептид, створений таким чином, призначений для застосування в імунологічних варіантах здійснення, як в даному випадку. Ілюстративні заміщення амінокислот представлені в таблиці 2.

Таблица 2

Вихідні залишки	Ілюстративні заміщення	Переважні заміщення
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, норлейцин	Leu
Leu	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-діаміномасляний	Arg
	Acid, Gln, Asn	
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala,	Leu
	Tyr	
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe,	Leu
	Ala, норлейцин	

Термін "похідне" стосується молекули, яка включає хімічну модифікацію, відмітну від вставки, делеції або заміщення амінокислот (або нуклеїнових кислот). У деяких варіантах здійснення похідні містять ковалентні модифікації, в тому числі без обмеження хімічне зв'язування з полімерами, ліпідами або іншими органічними або неорганічними фрагментами. У деяких варіантах здійснення хімічно модифікована антигензв'язувальна молекула може мати більший період напівиведення з кровотоку, ніж антигензв'язувальна молекула, яка хімічно не модифікована. У деяких варіантах здійснення похідна антигензв'язувальна молекула ковалентно модифікована для включення в себе одного або декількох розчинних у воді полімерних прикріплень, в тому числі без обмеження поліетиленгліколь, поліоксетиленгліколь або поліпропіленгліколь.

Пептидні аналоги широко застосовуються у фармацевтичній промисловості як непептидні лікарські засоби з властивостями, аналогічними лікарським засобам з пептидом матриці. Дані типи непептидного з'єднання називаються "пептидні міметики" або "пептидоміметики". Fauchere, J., Adv. Drug Res., 15:29 (1986); Veber & Freidinger, TINS, p. 392 (1985); та Evans зі співавт., J. Med. Chem., 30:1229 (1987), яка включена в даний документ шляхом посилання для будь-якої цілей.

Термін "терапевтично ефективна кількість" стосується кількості антигензв'язувальної молекули до FLT3, яка, як визначено, забезпечує терапевтичну відповідь у ссавця. Такі терапевтично ефективні кількості легко встановлюються спеціалістом у даній галузі.

Терміни "пацієнт" та "суб'єкт" застосовуються взаємозамінно та включають суб'єктів-людей та тварин-суб'єктів, що не є людьми, а також суб'єктів з раніше діагностованими порушеннями, без раніше діагностованих порушень, що одержують медичну допомогу, із ризиком розвитку порушень тощо.

Термін "лікувати" та "лікування" включає терапевтичні способи лікування, профілактичні способи лікування та варіанти застосування, у яких знижується ризик розвитку у суб'єкта порушення або інший фактор ризику. Лікування не потребує повного вилікування порушення та

охоплює варіанти здійснення, в яких знижуються симптоми або основні фактори ризику. Термін "попереджувати" не потребує 100 % ліквідації можливості явища. Скоріше він визначає, що вірогідність виникнення явища була знижена в присутності сполуки або способу.

Стандартні методики можуть застосовуватися для рекомбінантної ДНК, синтезу олігонуклеотидів та тканинної культури та трансформації (наприклад, електропорація, ліпофекція). Методики ферментативних реакцій та очищення можуть здійснюватися відповідно до вказівок виробника або як зазвичай застосовується у даній галузі, або як описано у даному документі. Приведені вище методики та процедури можуть зазвичай здійснюватися відповідно до звичайних способів, добре відомих у даній галузі, та як описано у різноманітних загальних та більш конкретних довідкових матеріалах, які вказані та обговорені в даному описі. Див., наприклад, Sambrook зі співавт., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), яка включена в даний документ шляхом посилання для будь-яких цілей.

Наступні послідовності будуть додатково ілюструвати даний винахід.

CD28Т ДНК позаклітинна, трансмембранна, внутрішньоклітинна

CTTGATAATGAAAAGTC

AAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTCCTGGTCCAT
CCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCAC
CGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGA
ATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGA
TTTCGCTGCCTATCGGAGC (SEQ ID NO: 1)

CD28Т позаклітинна, трансмембранна, внутрішньоклітинна AA:

LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP FWVLVVVGGV LACYSLLVTV AFIFWVRSK
RSRLLHSDYM NMTPRRPGPT RKHYQPYAPP RDFAAYRS (SEQ ID NO: 2)

CD28Т ДНК - позаклітинна

CTTGATAATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTC
ACCCTTGTTCCTGGTCCATCCAAGCCA (SEQ ID NO: 3)

CD28Т AA - позаклітинна

LDNEKSNGTI IHVKGKHLCP SPLFPGPSKP (SEQ ID NO: 4)

CD28 ДНК трансмембранний домен

TTCTGGGTGTTGGTCGTAGTGGGTGGAGTCCTCGCTTGTTACTCTCTGCTCGTCACCGTGGC
TTTTATAATCTTCTGGGT (SEQ ID NO: 5)

CD28 AA трансмембранний домен:

FWVLVVVGGV LACYSLLVTV AFIFWV (SEQ ID NO: 6)

CD28 ДНК внутрішньоклітинний домен:

AGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGG
CCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGC
(SEQ ID NO: 7)

CD28 AA внутрішньоклітинний домен

RSKRSLHSDYMNMTTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 8)

CD3 дзета ДНК

AGGGTGAAGTTTTCCAGATCTGCAGATGCACCAGCGTATCAGCAGGGCCAGAACCAACTGTA
TAACGAGCTCAACCTGGGACGCAGGGAAGAGTATGACGTTTTGGACAAGCGCAGAGGACGGGA
CCCTGAGATGGGTGGCAAACCAAGACGAAAAAACCCCGAGGAGGTCTCTATAATGAGCTGCAG
AAGGATAAGATGGCTGAAGCCTATTCTGAAATAGGCATGAAAGGAGAGCGGAGAAGGGGAAAAG
GGCAGCAGCGTTTGTACAGGGACTCAGCACTGCTACGAAGGATACTTATGACGCTCTCCACAT
GCAAGCCCTGCCACCTAGG (SEQ ID NO: 9)

CD3 дзета AA

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 10)

CD28 ДНК

ATTGAGGTGATGTATCCACCGCCTTACCTGGATAACGAAAAGAGTAACGGTACCATCATTAC
GTGAAAGGTAAACACCTGTGTCTTCTCCCTCTTCCCGGGCCATCAAAGCCC (SEQ ID NO:
11)

CD28 AA

IEVMYPPPYL DNEKSNGTII HVKGKHLCP SPLFPGPSKP (SEQ ID NO: 12)

CD8 ДНК позаклітинний та трансмембранний домен

GCTGCAGCATTGAGCAACTCAATAATGTATTTAGTCACTTTGTACCAGTGTTCTTGCCGGCT
AAGCCTACTACCACACCGCTCCACGGCCACCTACCCAGCTCCTACCATCGTTTACAGCCTC
TGTCCCTGCGCCAGAGGCTTGCCGACCGGCCGAGGGGGCGCTGTTTCATACCAGAGGACTGG

ATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCCCTGGCCGGAACCTGCGGCGTACTCCTGCTGTC
CCTGGTCATCACGCTCTATTGTAATCACAGGAAC (SEQ ID NO: 13)

CD8 AA позаклітинний та трансмембранний домен

AAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA
5 CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRN (SEQ ID NO: 14)

Клон 10E3 HC ДНК

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTGCTGGTGAAACCCACAGAGACCCTCACGCTGA
CCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCATCAATGCTAGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAGCC
CCCAGGGAAGGCCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTTTTCGAATGCCGAAAAATCGTACAGGACA
10 TCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGACACCTCCAAAAGCCAGGTGGTCCTTACCATGA
CCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTACTGTGCACGGATACCAGGCTACGGTGGTAA
CGGGGACTACCCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC
A (SEQ ID NO: 15)

Клон 10E3 HC AA - CDR підкреслені

15 QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLINARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNAEKSYRTSLK
SRLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCARIPGYGGNGDYHYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ
ID NO: 16)

Клон 10E3 HC AA CDR1: NARMGVVS (SEQ ID NO: 17)

Клон 10E3 HC AA CDR2: HIFSNAEKSYRTSLKS (SEQ ID NO: 18)

20 Клон 10E3 HC AA CDR3: IPGYGGNGDYHYYGMDV (SEQ ID NO: 19)

Клон 10E3 LC ДНК

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTCTAGGAGACAGAGTCACCAT
CACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAA
GCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTTCATCCACTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG
25 GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAAC
TTATTACTGTCTACAGCATAATAATTTCCCGTGGACGTTCCGGTCAGGGAACGAAGGTGGAATCA
AACGA (SEQ ID NO: 20)

Клон 10E3 LC AA (CDR підкреслені)

30 DIQMTQSPSSLSASLGDRVITICRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGS
GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 21)

Клон 10E3 LC CDR1 AA: RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 22)

Клон 10E3 LC CDR2 AA: ASSTLQS (SEQ ID NO: 23)

Клон 10E3 LC CDR3 AA: LQHNNFPWT (SEQ ID NO: 24)

Клон 2E7 HC ДНК

35 CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTGCTGGTGAAACCCACAGAGACCCTCACGCTGA
CCTGCACCGTCTCTGGGTTCTCACTCAGGAATGCTAGAATGGGTGTAAGCTGGATCCGTCAGCC
TCCCGGGAAGGCCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTTTTCGAATGACGAAAAACCTACAGCACAT
CTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAGGGACACCTCCAAAAGGCCAGGTGGTCCTTACCATGAC
CAAGATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTACTGTGCACGGATACCCTACTATGGTTCCGGGG
40 AGTCATAACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID
NO:25)

Клон 2E7 HC AA (CDR підкреслені)

45 QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLRNARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNDEKTYSTSL
KSRLTISRDTSKGQVVLMTKMDPVDATYYCARIPYYGSGSHNYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID
NO:26)

Клон 2E7 HC AA CDR1: NARMGVVS (SEQ ID NO:17)

Клон 2E7 HC AA CDR2: HIFSNDEKTYSTSLKS (SEQ ID NO:26)

Клон 2E7 HC AA CDR3: IPYYGSGSHNYGMDV (SEQ ID NO:27)

Клон 2E7 LC ДНК

50 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCAT
CACTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTAGAAATGATTTCCGGCTGGTATCAACAGAAACCAGGGAAA
GCCCTCAGCGCCTGCTCTATGCTGCATCCACTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCG
GCAGTGGATCTGGGACAGAATTCATCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAAC
TATTACTGTCTACAGTATAATACTTACCCGTGGACGTTCCGGTCAGGGAACGAAGGTGGAATCAA
55 ACGA (SEQ ID NO: 28)

Клон 2E7 LC AA (CDR підкреслені)

SGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYNTYPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 29)

Клон 2E7 LC AA CDR1: RASQDIRNDFG (SEQ ID NO: 30)

60 Клон 2E7 LC AA CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO: 31)

Клон 2E7 LHC AA CDR3: LQYNTYPWT (SEQ ID NO: 32)

Клон 8B5 HC ДНК

CAGATACAACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCT
CCTGTGTAGCGTCTGGATTACCTTCAAGAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGG
5 CAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATTTGGTATGATGGAAGTAATGAATACTATGGAGACCCC
GTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACCTCCAAGAACATGTTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGCCGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGTGCGGAATAGCAGTGGCTGGGGC
CTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 33)

Клон 8B5 HC AA (CDR підкреслені)

10 QIQLVESGGGVVQPGRLRLSCVASGFTFKNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNEYYGD
PVKGRFTISRDNSKNMLYLQMNSLRADDTAVYYCARSGIAVAGAFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID
NO: 34)

Клон 8B5 HC AA CDR1: NYGMH (SEQ ID NO: 34)

Клон 8B5 HC AA CDR2: VIWDGSNEYGD PVKG (SEQ ID NO: 35)

15 Клон 8B5 HC AA CDR3: SGIAVAGAFDY (SEQ ID NO: 36)

Клон 8B5 LC ДНК

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGACACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAAAGCCACCCT
CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGA
CAGGCTCCAGTCTCCTCATCTATGTTGCATCCAGAAGGGCCGCTGGCATCCCTGACAGGTTCA
20 GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGG
AATGTTTTACTGTCAACACTATGGTAGGACACCATTCACTTTGGCCCTGGGACCAAAGTGGATA
TCAAACGA (SEQ ID NO: 37)

Клон 8B5 LC AA (CDR підкреслені)

25 EIVLTQSPDTLSLSPGEKATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPSLIIYVASRRAAGIPDRFSGS
GSGTDFTLTISRLEPEDFGMFYCQHYGRTPFTFGPGTKVDIKR (SEQ ID NO: 41)

Клон 8B5 LC AA CDR1: RASQSVSSSFLA (SEQ ID NO: 38)

Клон 8B5 LC AA CDR2: VASRRAA (SEQ ID NO: 39)

Клон 8B5 LC AA CDR3: QHYGRTPFT (SEQ ID NO: 40)

Клон 4E9 HC ДНК

30 CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATACACTGGGTGCGACAGGCCCTG
AACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAACTATGCACAGAA
GTTTCAGGGCAGGGTCACCATGGCCAGGGACACGTCCATCAGCACAGTTTACATGGACCTGAGC
AGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAATACGCGGTGGTAACTCGGTCT
35 TTGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 41)

Клон 4E9 HC AA (CDR підкреслені)

40 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTFTGYIHWVRQAPQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ
KFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYCARIRGGNSVFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:
42)

Клон 4E9 HC AA CDR1: GYYIH (SEQ ID NO: 43)

Клон 4E9 HC AA CDR2: WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO: 44)

Клон 4E9 HC AA CDR3: IRGGNSVFDY (SEQ ID NO: 45)

Клон 4E9 LC ДНК

45 GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCA
TCAACTGCAAGTCCACCCAGAGTATTTTATACACCTCCAACAATAAGAACTTCTTAGCTTGGTACC
AGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAACTGCTCATTTCTGGGCATCTATCCGGGAATCCGGGGT
CCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTTCGCTCTCACCATCAGCAGCCTGCAG
GCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAACAATATTTAGTACTATGTTTCAGTTTTGGCCAGGGG
ACCAAGCTGGAGATCAAACGA (SEQ ID NO: 46)

50 Клон 4E9 LC AA (CDR підкреслені)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSILYTSNNKNFLAWYQQKPGQPPLKLLISWASIRESGVPD
RFSGSGSGTDFALTISSLQAEDVAVYYCQQYFSTMFSFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 47)

Клон 4E9 LC AA CDR1: KSTQSILYTSNNKNFLA (SEQ ID NO: 48)

Клон 4E9 LC AA CDR2: WASIRES (SEQ ID NO: 49)

55 Клон 4E9 LC AA CDR3: QQYFSTMFS (SEQ ID NO: 50)

Клон 11F11 HC ДНК

60 CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTCA
CCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGCATACTACTGGACTTGGATCCGCCAGCA
CCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCCATTACAGTGGGAGCACCTACTCCAACCC
GTCCCTCAAGAGTCGAATTACCATATCGTTAGACACGTCTAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGA

ACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGACAAGAGGACTACGGTGGTTT
GTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTTTCCTCA (SEQ ID NO: 51)

Клон 11F11 HC AA (CDR підкреслені)

5 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYYWTWIRQHPGKGLEWIGYIHYSGSTYSNPS
LKSRLTISLDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARQEDYGGGLFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 52)

Клон 11F11 HC AA CDR1: SGAYYWT (SEQ ID NO: 53)

Клон 11F1 HC AA CDR2: YIHYSGSTYSNPSLKS (SEQ ID NO: 54)

Клон 11F1 HC AA CDR3: QEDYGGGLFDY (SEQ ID NO: 55)

Клон 11F11 LC ДНК

10 GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGGGAAAGAATCACCCCT
CTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTACCACCGACTTAGCCTGGTACCAGCAGATGCCTGGACAG
GCTCCCCGGCTCCTCATCTATGATGCTTCCACCAGGGCCACTGGTTTCCAGCCAGATTTCAGTG
GCAGTGGGTCTGGGACAGACTTACGCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATTTTGCAGT
TTATTACTGTCAACATTATAAACCTGGCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACTAAGGTGGAGATCA
15 AACGA (SEQ ID NO: 56)

Клон 11F11 LC AA (CDR підкреслені)

EIVMTQSPATLSVSPGERITLSCRASQSVTTDLAWYQQMPGQAPRLLIYDASTRATGFPARFSGS
GSGTDFLTISLQAEDFAVYYCQHYKTWPLTFGGGKTKVEIKR (SEQ ID NO: 57)

Клон 11F11 LC AA CDR1: RASQSVTTDLA (SEQ ID NO: 58)

20 Клон 11F1 LC AA CDR2: DASTRAT (SEQ ID NO: 59)

Клон 11F1 LC AA CDR3: QHYKTWPLT (SEQ ID NO: 60)

Конструкція 10E3 CD28 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC
CGCAGGTGACCCTCAAAGAGTCTGGACCCGTGCTCGTAAAACCTACGGAGACCCTGACACTCAC
25 CTGCACAGTCTCCGGCTTCAGCCTCATCAATGCCAGGATGGGAGTTTCTGGATCAGGCAACCG
CCCGGAAAGGCCCTGGAATGGCTCGCACATATTTTCAGTAACGCTGAAAAAAGCTATCGGACTTC
TCTGAAAAGTCGGCTCACGATTAGTAAGGACACATCCAAGAGCCAAGTGGTGCTTACGATGACTA
ACATGGACCCTGTGGATACTGCAACCTATTACTGTGCTCGAATCCCTGGTTATGGCGGAAATGG
GGACTACCACTACTACGGTATGGATGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTTACTGTTTCAAGCGGA
30 GGGGGAGGGAGTGGGGGTGGCGGATCTGGCGGAGGAGGCAGCGATATCCAGATGACGCAGTC
CCCTAGTTCACTTTCCGCATCCCTGGGGGATCGGGTTACCATTAATGCCGCGCGTCACAGGGT
ATCCGGAATGATCTGGGATGGTACCAGCAGAAGCCGGGAAAGGCTCCTAAGCGCCTCATCTACG
CCAGCTCCACCCTGCAGAGTGGAGTGCCTCCCGGTTTTTCAGGCAGTGGCTCCGGTACGGAGT
TACTCTTACAATTAGCAGCCTGCAGCCAGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTTTGCAGCATAATA
35 ATTTCCCTGGACCTTTGGTCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAAGAGCAGCCGCCATCGAAGT
AATGTATCCCCCCCCGTACCTTGACAATGAGAAGTCAAATGGAACATTATCCATGTTAAGGGCA
AACACCTCTGCCCTTCTCCACTGTTCCCTGGCCCTAGTAAGCCGTTTTGGGTGCTGGTGGTAGTC
GGTGGGGTGCTGGCTTGTTACTCTCTTCTCGTGACCGTCGCCTTTATAATCTTTTGGGTGAGTC
CAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACA
40 AGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAAT
TTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAAC
CTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTTGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGG
GGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGG
CTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCT
45 TGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCC
CCCACGCTAG (SEQ ID NO: 61)

Конструкція 10E3 CD28 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом; CDR підкреслені)

MALPVTALLPLALLHAARPQVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLINARMGVSWIRQPPG
50 KALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVLTMTNMDPVDATYYCARIPGYGGNGDYHYY
GMDVWVGQTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRTITCRASQGIRNDLG
WYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQG
TKVEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTV
AFIIFWVRSKRSLRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN
55 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRG
KGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 62)

Конструкція 10E3 CD28T ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC
CGCAAGTTACTTTGAAGGAGTCTGGACCTGACTGGTGAAGCCAACCGAGACACTGACACTCAC
60 GTGTACAGTGAGTGGTTTTTCTTGATCAACGCAAGGATGGGCGTCAGCTGGATCAGGCAACCC

CCTGGCAAGGCTCTGGAATGGCTCGCTCACATATTCAGCAATGCCGAAAAAAGCTACCGGACAA
 GCCTGAAATCCCGCTGACTATTTCCAAGGACACTTCTAAGTCTCAGGTGGTGGTGGACCATGACC
 AACATGGACCCGGTGGACACCGCCACCTATTACTGCGCAAGAATCCCTGGGTATGGTGGGAATG
 GTGACTACCATATTATGGGATGGATGTGTGGGGGCAAGGCACAACCGTAACGGTCTCAAGCGG
 5 TGGGGGAGGCTCAGGGGGCGGAGGCTCCGGAGGTGGCGGCTCCGACATTCAGATGACCCAAA
 GCCCGTCCAGCCTGTCCGCCAGCCTGGGAGATAGAGTGACAATCACGTGTAGAGCTTCCCAAG
 GGATAAGAAATGATCTCGGGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGCCCCCAAAAGGCTTATATA
 TGCTAGTAGTACACTGCAGTCTGGAGTTCCTTCCCGATTTTCAGGTAGCGGCTCCGGTACAGAGT
 TCACCCTCACGATAAGCTCACTCCAGCCTGAGGATTTTCGCAACGTACTACTGCCTCCAGCACAA
 10 AATTTTCCCTGGACTTTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAGATCAAGAGGGCCGCTGCCCTTGATA
 ATGAAAAGTCAAACGGAACAATCATTACGTGAAGGGCAAGCACCTCTGTCCGTCACCCTTGTTT
 CCTGGTCCATCCAAGCCATTCTGGGTGTTGGTTCGTAGTGGGTGGAGTCCCTCGCTTGTACTCTCT
 GCTCGTCACCGTGGCTTTTATAATCTTCTGGGTAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCTCCATAGCG
 ATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACC
 15 ACCTAGAGATTTTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCT
 ATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAAGAGTACGACGT
 TTTGGACAAACGCCGGGGCGGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCA
 AGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATG
 AAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACA
 20 AAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 63)

Конструкція 10E3 CD28T AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом; CDR підкреслені)

MALPVTALLPLALLHAARPQVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLINARMGVSWIRQPPG
 KALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVL TMTNMDPVDATYYCARIPGYGGNGDYHYY
 25 GMDVWVGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGI RNDLG
 WYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQG
 TKVEIKRAAALDNEKSNGTIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVGVLACYSLLVTAFIIFWVRSK
 RSRL LHS DYMNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG
 RREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHGDGLYQ
 30 GLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 64)

Конструкція 10E3 CD8 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCGGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGACGCC
CGCAGGTGACACTCAAGGAATCAGGGCCCGTACTGGTGAACCTACTGAGACCCTGACACTGAC
 TTGCACCGTGTCTGGGTTCTCTCTGATTAACGCTCGAATGGGTGTGAGTTGGATACGCCAGCCT
 35 CCAGGGAAGGCTCTGGAGTGGTTGGCCACATTTCTCCAACGCCGAGAGCTACAGGACTA
 GTCTGAAGTCCAGACTTACCATTTCCAAAGACACAAGTAAATCACAGGTGGTGTGACAATGACA
 AACATGGACCCGGTTGATACTGCTACCTATTATTGTGCCCGCATTCCCGGCTACGGCGGCAATG
 GCGACTATCACTATTATGGTATGGATGTCTGGGGGACAGGGGACCACTGTTACCGTGTCCAGCGG
 GGGTGGTGGCAGCGGAGGTGGAGGGAGCGGTGGTGGGGGGAGTGATATTCAGATGACCCAGA
 40 GCCCTAGCTCTCTTCCGCTTCTCTGGGCGATAGAGTCACCATCACCTGCCGGGCCCTCTCAAGG
 CATCCGGAACGATCTTGGATGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCACCAAAAAGGCTGATCTAC
 GCATCAAGCACCCCTGCAATCTGGGGTGCCGTCCCGGTTTTCTGGTTCTGGTAGTGGGACCGAGT
 TTA CTCTGACTATTTCTTCCCTGCAGCCTGAGGACTTTGCTACGTACTATTGTCTGCAGCATAACA
 ACTTCCCCTGGACGTTTCGGGCAGGGTACGAAAGTGGAATTAAGCGCGCCGCCGCCCTGTCCA
 45 ACTCCATTATGTATTTCTCTCATTTTGTCCAGTGTTCTGCCCCGCTAAACCCACA ACTACTCCGG
 CGCCCCGACCGCCAACTCCCGCACCTACCATCGCAAGCCAGCCATTGAGCCTCCGACCTGAGG
 CATGTAGACCAGCAGCCGGCGGTGCCGTGCACACAAGGGGACTGGATTTGCGCTGCGACATAT
 ATATTTGGGCCCTCTGGCTGGAACCTGTGGGGTTCTGCTGCTCTCTCGTTATTACACTGTAT
 TGCAATCATCGCAATAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCC
 50 ACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTTCGCTGCC
 TATCGGAGCCGAGTGAAATTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCA
 ACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGC
 CGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAG
 CTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGA
 55 GGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAGGACACCTATGACGCC
 CTCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 65)

Конструкція 10E3 CD8 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом; CDR підкреслені)

MALPVTALLPLALLHAARPQVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLINARMGVSWIRQPPG
 60 KALEWLAHIFSNAEKSYRTSLKSRLTISKDTSKSQVVL TMTNMDPVDATYYCARIPGYGGNGDYHYY

GMDVWQGQTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGIRNDLG
 WYQQKPGKAPKRLIYASSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNNFPWTFGQG
 TKVEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG
 LDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPR
 5 DFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
 YNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 66)

Конструкція 8B5 CD28 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCGGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGACGCC
CGCCAGATCCAGTTGGTGGAATCAGGGGGCGGTGTGGTGACAGCCGGGTAGGAGCCTGAGACTGT
 10 CATGCGTGGCGTCTGGCTTACATTCAAGAACTACGGCATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCCG
 GAAAGGGTTTGGAGTGGGTGCGCGTGATCTGGTACGACGGATCTAATGAGTATTACGGAGATCC
 TGTGAAGGGAAGGTTACCATCTCCCGCAGACAATAGCAAAAATATGCTCTACCTGCAAAATGAAC
 CACTCAGGGCGGATGATACGGCGGTCTACTATTGCGCTCGCTCAGGGATTGCTGTGGCCGCG
 CATTCGATTACTGGGGACAGGGTACCCTGGTGACAGTATCAAGCGGAGGCGGCGGCTCTGGCG
 15 GCGGCGGATCTGGCGGGGGGGAAGTGAGATTGTGTTGACACAGTCTCCCGATACCCTGTAC
 TGTCACCCGCGCAGAAAGGCAACGCTGAGTTGACAGCAAGCCAGTCAGTCTCCTCTTCTTTCT
 GGCCTGGTATCAGCAAAAACAGGTCAGGCACCATCTCTCCTGATTTACGTTGCCAGCAGACGG
 GCGGCTGGCATTCCCGACAGGTTCTCTGGAAGCGGATCTGGGACCGATTTTACCCTGACAATTA
 GCCGCTTGAGCCCGAAGACTTTGGTATGTTTTACTGCCAGCACTACGGAAGGACACCTTTTAC
 20 ATTTGGCCCGGGCAGAAAGTCGATATAAAACGCGCAGCCGCCATTGAAGTAATGTACCCACCA
 CCTTATTTGGACAATGAAAAGTCCAATGGTACCATTATTCACGTCAAGGGAAGCATCTCTGTCCA
 AGCCCTCTGTTCCCGGCCCTCCAAACCATTCTGGGTGCTGGTGGTCTGCGCGGAGTTCTG
 GCCTGCTATTCTCTGCTCGTGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTAC
 25 CAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGC
 TGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGA
 GAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGA
 AGGAAGAATCCTCAAGAAGGCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACT
 CTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCC
 30 TGAGTACAGCCACAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG
 (SEQ ID NO: 67)

Конструкція 8B5 CD28 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQIQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFKNYGMHWVRQAPG
 KGLEWVAVIWDGSNEYYGDPVKGRFTISRDN SKNMLYLQMNSLRADDTAVYYCARSGIAGVAGAFD
 35 YWQGATLTVSSGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDTLSLSPGEKATLSCRASQSVSSSLAWYQ
 QKPGQAPSLLIYVASRRAAGIPDRFSGSGSDFTLTISRLEPEDFGMFYGRTPFTFGPGTKVD
 IKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVVGVLACYSLLVTVAFIIF
 WVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
 ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGGHD
 40 GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 68)

Конструкція 8B5 CD28T ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCGGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGACGCC
CGCCAGATTCACTCGTGGAGTCAGGTGGTGGCGTGGTTCAGCCCGGACGGTCCCTGCGACTCT
 CTTGTGTGGCAAGCGGATTTACCTTTAAGAACTATGGCATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCTGG
 45 AAAAGGACTGGAGTGGGTTGCTGTGATCTGGTACGACGGGTCCAACGAATATTATGGCGATCCT
 GTGAAGGGACGGTTTACAATCTCACGCGATAACTCAAAGAACATGCTGTACCTGCAAAATGAAC
 TCTGCGCGCTGATGACACTGCCGTGTATTATTGCGCTCGGAGTGGTATCGCCGTGCGAGGAGCA
 TTTGATTATTGGGGGCAAGGGACCCTCGTGACAGTGAGTTCCGGAGGGGGAGGTTCTGGTGGA
 GCGGCTCTGGTGGGGGAGGCAGCGAGATCGTTCTGACCCAGTCTCCTGACACACTGTCACTG
 50 TCCCTGGTGAAAAGGCCACACTGTCTTGTAGAGCGTCCAGAGCGTTTCCAGTTCTTCTTGC
 ATGGTATCAACAAAAACCCGGGCGAGGCTCCAAGCTTGCTGATCTACGTGGCCAGCCGCCGGGC
 CGCAGGCATCCCTGATAGGTTTAGCGGTTCTGGGAGCGGGACGGAATTCACCTTGACAATATCA
 CGGCTGGAACCCGAAGACTTCGGAATGTTTTATTGCCAGCACTACGGAAGAACTCCATTACCTT
 TGGCCCGGGAACGAAGGTAGACATCAAGAGAGCAGCAGCCCTCGACAACGAGAAATCCAATGG
 55 AACCATTATCCATGTGAAGGGGAAACATCTCTGCCCTTACCATTGTTCCCTGGACCCAGCAAGC
 CTTTTGGGTTCTGGTCTGGTGGGGGCGTCTGGCTTGTACTCCCTCCTCGTTACAGTCGC
 CTTTATAATCTTTTGGGTTAGATCCAAAAGAACCGCCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGAC
 TCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCT
 GCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGA
 60 ATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCG

GGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAA
CGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAG
ACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGAC
GCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 69)

5 Конструкція 8B5 CD28T AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQIQLVESGGGVVQPGRLRLSCVASGFTFKNYGMHWVRQAPG
KGLEWVAVIWDGSNEYYGDPVKGRFTISRDN SKNMLYLQMNLSLRADDTAVYYCARSGIAVAGAFD
YWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDTLSLSPGEKATLSCRASQSVSSSFLAWYQ
QKPGQAPSLLIYVASRRAAGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFGMFYQCQHYGRTPFTFGPGTKVD
10 IKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFVWL VVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSR
LLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDLGYQGLST
ATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 70)

Конструкція 8B5 CD8 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

15 **ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC**
CGCCAGATACAGCTTGTGCAATCCGGTGGCGGGGTGGTGCAGCCTGGACGCAGCCTGCGGCTTT
CTTGCGTGGCCAGCGGATTTACCTTCAAGAACTACGGGATGCATTGGGTCCGCCAGGCACCCG
GCAAAGGCCTTGAGTGGGTTCAGTGATCTGGTACGACGGCAGTAACGAGTATTATGGCGACCC
CGTGAAGGGAAGGTTTACTATTTCAAGAGATAATAGTAAGAACATGTTGTATCTGCAATGAACAG
20 TCTGAGAGCGGACGACACTGCCGTGTACTACTGTGCTCGCTCCGGCATCGCTGTGGCAGGGGC
CTTTGACTACTGGGGTCAGGGGACGCTGGTCACGGTTAGTTCCGGGGGCGGTGGTTCGGGAGG
AGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCAGAAATCGTTCTTACTCAGAGTCCCGATACGCTGTCTTG
TCTCCGGGAGAAAAAGCCACACTGAGCTGCCGAGCCTCACAGTCAGTAAGTTCTTCATTCTCG
CCTGGTACCAGCAAAAACCGGGGCGAGGCCCTTCCCTGCTTATCTACGTGGCCTCTAGGAGAGC
25 CGCCGGTATTCTGACCGGTTTCAGCGGAAGTGGTTCGGGACTGATTTTACGCTCACGATCTCC
CGATTGGAGCCCGAGGATTTCCGGGATGTTCTACTGTACGATTATGGAAGAACGCCCTTTACCTT
CGGTCCGGGAACATAAGGTTGATATTAAGCGGGCTGCTGCCCTTAGCAACTCCATCATGTATTTT
CTCACTTCGTGCCAGTATTCTGCCAGCCAAACCGACCACAACCCCGACACCTAGACCTCCTACT
CCCGCTCCCACCATAGCTTCACAGCCGCTGAGTTTGAGGCCAGAGGCCTGTGGGCTGCTGCA
30 GGCGGAGCAGTTCACACCAGGGGACTTGACTTTGCATGTGACATCTATTTGGGCTCCACTGG
CGGGAACCTGCGGGGTGCTCCTTTTGTCACTCGTTATCACACTGTATTGCAATCATAGGAATAGA
TCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCA
CAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAA
ATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGA
35 ACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTTGACAAACGCCGGGGCGGAGATCCTGAGATGG
GGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACTCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAAT
GGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATG
GCTTGATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACT
GCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 71)

40 Конструкція 8B5 CD8 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQIQLVESGGGVVQPGRLRLSCVASGFTFKNYGMHWVRQAPG
KGLEWVAVIWDGSNEYYGDPVKGRFTISRDN SKNMLYLQMNLSLRADDTAVYYCARSGIAVAGAFD
YWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPDTLSLSPGEKATLSCRASQSVSSSFLAWYQ
QKPGQAPSLLIYVASRRAAGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFGMFYQCQHYGRTPFTFGPGTKVD
45 IKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFA
CDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA
YRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL
QKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDLGYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 72)

Конструкція 4E9 CD28 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

50 **ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC**
CGCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGTGGGGCAGAAGTAAGAAGCCTGGTGCCTCTGTCAAAGTTA
GTTGCAAAGCATCTGGGTATACTTTACCGGTTACTATATCCATTGGGTTCGGCAGGCCCCCGGA
GCAGGGACTGGAGTGGATGGGCTGGATCAACCCAAATTCAGGCGGCACTAACTATGCTCAAAG
TTCCAGGGCAGGGTCACAATGGCCCGGGATACTTCAATTAGCACCGTCTATATGGATCTTAGTCG
55 GCTGCGCAGTGACGATACCGCTGTCTACTATTGCGCAAGGATCAGGGGCGGCAATTCTGTTTTT
GACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACCGTCTCCTCTGGTGGAGGCGGTAGTGGTGGAGGC
GGGTCCGGAGGAGGGGGCTCCGATATAGTGATGACTCAAAGTCCCGATAGCTTGGCAGTATCTC
TTGGGGAACCGCCCACTATTAAGTGTAAATCCACCCAGTCCATTCTATACCTCTAACAAACAAG
AATTTCTCGCGTGGTATCAGCAAAAACCGGGCAGCCACCTAAAGTCTTATATCTGGGCCA
60 GCATCAGGGAGTCCGGCGTCCCTGATCGGTTACGCGGTAGTGGCAGCGGGACAGACTTCGCTC

TGACCATCAGTAGCCTCCAGGCTGAAGATGTGCGCAGTGTATTATTGCCAGCAGTACTTCAGCACG
 ATGTTTAGCTTCGGGCAGGGAACCAAGCTGGAAATAAAGAGAGCTGCAGCAATCGAGGTGATGT
 ACCCACCTCCATATCTGGACAATGAAAAGTCCAATGGCACTATCATACAGTGAAGGGGCAAAACAC
 CTGTGTCCATCTCCACTTTTCCCGGGCCCGTCTAAACCTTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCG
 5 GAGTTCTGGCCTGTTATTCAGTGTGGTACCGTGGCTTTCATCATTTTTTGGGTAAGATCCAAAA
 GAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAA
 ACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCGTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTA
 GATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGG
 TCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGGCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAA
 10 GCGGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAG
 GCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTAT
 CAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCA
 CGCTAG (SEQ ID NO: 73)

Конструкція 4E9 CD28 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

15 **MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYIHWRQAP**
 EQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYCARIRGGNSVFDY
 WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSILYTSNNKNFLA
 WYQQKPGQPPLKLLISWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFALTISLQAEDVAVYYCQQYFSTMFSGGQ
 GTKLEIKRAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVT
 20 VAFIIFWVRKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRR
 KGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 74)

Конструкція 4E9 CD28T ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

25 **ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC**
CGCCAGGTACAGCTGGTGCAGAGCGGGGCCGAGGTCAAAAAGCCCGGGGCTTCAGTTAAGGTTA
 GCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCGGTTACTATATTCAGTGGGTAGACAGGCACCTGAG
 CAAGGACTGGAGTGGATGGGGTGGATTAACCCCAATAGCGGTGGGACCAACTACGCCCAGAAG
 TTTCAAGGCCGAGTGACAATGGCACGAGACACCTCCATTTCACTGTGTACATGGACTTGAGCC
 GCCTCAGGTGAGACGACACCGCAGTGTACTACTGTGCGCGAATCCGCGGGCGGAAACAGCGTGT
 30 TTGACTACTGGGGTCAGGGCACGTTGGTGACCGTGTCTTCCGGAGGGGGGGGATCTGGTGGCG
 GGGGCTCCGGCGGAGGCGGTAGTGATATTGTGATGACTCAGTCACCGGACAGTCTTGCTGTTTC
 ACTTGGTGAGAGGGCCACCATAAATTGTAAGCAGCCAGAGCATTCTCTACACATCTAACAACA
 AAAATTTCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGCCACCCAAATTGCTGATTAGCTGGGC
 CAGCATTGAGAAATCTGGGGTTCGGGACCGCTTTTCCGGGTCTGGCTCTGGGACCGACTTCGCT
 35 TTGACCATAAGCTCTCTTCAGGCCGAAGACGTCGCAGTATACTATTGTCAACAGTATTTTCTACC
 ATGTTTTCTTCGGCCAGGGAAGTTGGAGATCAAGAGAGCAGCTGCATTGGATAATGAGAA
 GTCCAATGGCACTATTATCCACGTGAAAGGTAAACACCTGTGTCCCTCACCCCTGTTTCCAGGAC
 CTAGTAAACCATTCTGGGTCTTGGTTGTAGTCGGGGGCGTTTTGGCATGTTATTCCCTTCTTGTG
 ACAGTCGCCTTTATCATTTTCTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACAT
 40 GAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGA
 GATTCGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCA
 GGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGAC
 AAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAAATCCTCAAGAAGG
 CCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGC
 45 GAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGAC
 ACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 75)

Конструкція 4E9 CD28T AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

50 **MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYIHWRQAP**
 EQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYCARIRGGNSVFDY
 WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSILYTSNNKNFLA
 WYQQKPGQPPLKLLISWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFALTISLQAEDVAVYYCQQYFSTMFSGGQ
 GTKLEIKRAAALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRS
 KRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL
 55 GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKHDGLY
 QGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 76)

Конструкція 4E9 CD8 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

60 **ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC**
CGCAAAGTTTCAAGTGTGTCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAAAAACCAGGCGCCTCCGTTAAGGTGTC
 TTGCAAGCCAGCGGATACACATTTACCGGTTACTATATTCACTGGGTGAGGCAGGCCCTGAA
 CAGGGCCTTGAATGGATGGGGTGGATCAATCCAAATTCGGGGGAACCAATTATGCTCAGAAAT

TTCAGGGCAGAGTGACAATGGCCAGGGACACCTCAATCAGCACAGTCTACATGGACCTGAGCCG
 CCTGAGGTCTGATGACACAGCCGTCTACTACTGTGCCCGGATCAGAGGGGGAAACAGTGTCTTC
 GACTATTGGGGGCAGGGAACCCCTGGTGACTGTCTCCTCCGGGGGAGGGGGTAGCGGGGGAGG
 CGGCAGCGGCGGGGGTGGTTCTGACATTGTTATGACCCAATCCCCAGACTCTCTGGCCGTGAG
 5 CCTGGGTGAGAGAGCCACCATCAATTGCAAGTCCACCCAGAGCATACTCTATACGTCAAACAATA
 AGAATTTCTGGCGTGGTATCAGCAAAAGCCGGGTCAACCACCCAAGTTGTTGATTAGCTGGGC
 ATCAATTCGAGAATCTGGCGTCCCTGATAGGTTTAGCGGGAGCGGTAGTGGAACCGACTTTGCG
 CTGACCATTTTCATCCCTTCAGGCAGAGGACGTGGCTGTGTATTACTGTCAACAGTACTTCAGCAC
 GATGTTTTCTTTTCGGCCAGGGGACGAAGCTGGAGATAAAGCGGGCCGCAGCACTCAGCAACAG
 10 CATCATGTACTTTTCTCATTTTCGTCCCAGTTTTTCTCCCCGCCAAACCCACCACTACCCCTGCTCC
 TAGGCCTCCCACTCCCGCACCCACCATTTGCTTCCCAACCTCTGTCAATTGAGGCCCGAAGCCTGC
 AGACCTCGCGCAGGAGGGGCTGTGCACACCCGCGGTCTGGATTTTGCTTGATATCTACATTTT
 GGGCCCTTTGGCCGGAACCTGCGGAGTGTGTTGCTGAGCCTTGTGATATCTACTGTAA
 TCACAGAAACAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCC
 15 GCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACTAGAGATTTGCTGCCTATCG
 GAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTT
 ACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAG
 ATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTC
 AAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCA
 20 AGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCA
 CATGCAGGCACTGCCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 77)

Конструкція 4E9 CD8 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIHWVRQAPEQ
 GLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMARDTSISTVYMDLSRLRSDDTAVYYCARIRGGNSVFDY
 25 WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSTQSILYTSNNKNFLA
 WYQQKPGQPPLKLLISWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFTALTISSLQAEDVAVYYCQQYFSTMFSGGQ
 GTKLEIKRAAALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTR
 GLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP
 RDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE
 30 GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO:
 78)

Конструкція 11F11 CD28 ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAACTGCTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC
CGCAGGTGCAGCTCCAAGAGTCAGGACCAGGACTTGTCAAACCAAGCCAGACCCCTCAGCCTTAC
 35 CTGCACCGCTCAGCGGGGGCTCCATCAGCTCTGGGCTTACTACTGGACATGGATACGACAGCAT
 CCCGGTAAAGGTCTGGAGTGGATCGGGTACATACACTATAGTGGTTCCACATATTCTAATCCATC
 TCTTAAGAGTCAATTACAATTTCACTCGATACTTCAAAGAATCAGTTCAGCTTGAAACTGAACTC
 CGTGACCGCGGCTGACACCGCCGTGTAATACTGTCACGCCAAGAGGATTATGGCGGACTGTT
 CGATTATTGGGGGCAGGGAACCTCTCGTGACAGTGAGCTCCGGCGGGGGCGGCAGCGGTGGGG
 40 GTGGAAGTGGTGGAGGGGGCAGCGAGATCGTGATGACCCAGAGTCCTGCCACACTGTCACTGA
 GTCCTGGGGAGCGAATCACACTTTCTGTGAGCGTCTCAGTCCGTGACCACGGACCTGGCGT
 GGTACCAGCAGATGCCAGGCCAGGCGCCAAGACTCCTGATCTACGACGCTTCTACCCGCGCTA
 CTGGTTTCCCCGCCAGATTCTCCGGAAGCGGGTCCGGGACGGATTTTACACTTACCATCTCTTCA
 TTGCAGGCTGAGGATTTTGCCGTGTAATACTGTCAGCATTACAAAACCTGGCCCCCTCACTTTGCG
 45 GGGCGGAACAAAAGTGGAAATTAACGGGCAGCAGCTATTGAGGTGATGTACCCACCCCCCTAC
 CTGGACAACGAGAAATCCAATGGCACCATCATCCACGTTAAGGGTAAGCACTTGTGTCCCTCACC
 ACTCTTCCCTGGGCCTAGCAAGCCATTCTGGGTCTGCTGGTGGTGGTGGGAGGCGTGTGGCCTG
 CTATTCCTCCTGGTTACCGTTGCCTTTATCATATTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCTGCT
 CCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCT
 50 TACGCACCACTAGAGATTTGCTGCCTATCGGAGCCGAGTGAAATTTTCTAGATCAGCTGATGC
 TCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTGCGCAGAGAAGAG
 TACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAG
 AATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGAT
 CGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTATCAGGGCCTGAGTAC
 55 AGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCACGCTAG (SEQ ID NO:
 79)

Конструкція 11F11 CD28 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYYWTWIRQHP
 GKLEWIGYIHYSGSTYNSPLKSRITISLDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARQEDYGLFDYWG
 60 QGTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERITLSCRASQSVTTDLAWYQQMPG

QAPRLLIYDASTRATGFPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDFAVYYCQHYKTWPLTFGGGKTKVEIKRA
AAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVR
SKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELN
LGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDL
5 YQGLSTATKDYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 80)

Конструкція 11F11_CD28T_ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCGGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC
CGCAGGTGCAGTTGCAGGAGAGCGGGCCAGGCCTGGTGAAGCCCAGCCAAACACTGAGCCTCA
CCTGTACTGTGTCCGGTGGTAGCATTTCAGCGGGGCGTATTATTGGACATGGATACGCCAACA
10 CCCTGGAAGAGGTTGGAGTGGATTGGATACATCCATTATTCTGGGTCCACCTATAGTAACCTT
CTCTCAAGTCTCGCATTACTATTAGTTTGGATACCTCTAAGAATCAGTTTAGTCTGAAGCTGAACA
GTGTAACCGCCGCGACACCGCGGTCTACTACTGTGCTAGGCAGGAGGATTACGGGGGACTGT
TCGATTACTGGGCGCAGGGGACATTGTGTCACCGTTTCAAGCGGGGGCGGCGGATCTGGCGGAG
GGGGATCTGGAGGCGGAGGCTCTGAGATCGTAATGACTCAGAGCCAGCCACCCTGTCCGTCT
15 CTCCCGGCGAACGCATCACTCTGAGCTGTAGGGCATCACAGTCTGTTACCACAGATCTGGCTTG
GTATCAACAAATGCCTGGGCAGGCCCGCGACTGTTGATTTATGACGCCTCTACGCGGGCCACA
GGATTTCTGCCCGGTTCTCCGGGTCTGGTTCTGGCACCGATTTTACCTTGACAATCAGTAGCTT
GCAGGCAGAAGATTTCTGTGTATTACTGCCAACATTATAAGACATGGCCTTTGACATTCGGCG
GGGGAACCAAAGTGGAGATCAAACGCGCCGCGAGCCCTGGACAATGAGAAGTCTAATGGGACCA
20 TCATTCACGTCAAAGGGAACACCTGTGCCCTCTCCTCTGTTCCAGGCCCTTCTAAGCCCTTC
TGGGTTCTCGTGGTGGTGGGCGGTGCTGCTGCTGCTATTCCCTTCTTGACAGTGGCCTTTA
TCATTTTTTGGGTGAGATCCAAAAGAAGCCGCCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCA
CGCCGCCCTGGCCCCACAAGGAAACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTCTGCTGCCT
ATCGGAGCCGAGTGAATTTCTAGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCA
25 ACTTTACAATGAGCTGAACCTGGGTCTCGCAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGC
CGAGATCCTGAGATGGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAG
CTTCAAAAAGACAAAATGGCTGAGGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGA
GGCAAGGGTCACGATGGCTTGATCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCC
CTCCACATGCAGGCACTGCCCCACGCTAG (SEQ ID NO: 81)

Конструкція 11F11_CD28T_AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYYWTWIRQHP
GKGLEWIGYIHYSGSTYSNPSLKSRITISLDSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARQEDYGGLFDYWG
QGTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERITLSCRASQSVTTDLAWYQQMPG
QAPRLLIYDASTRATGFPARFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDFAVYYCQHYKTWPLTFGGGKTKVEIKRA
35 AALDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHS
DYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV
LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDLGYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 82)

Конструкція 11F11_CD8_ДНК (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCGGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC
CGCAGGTACAGTTGCAGGAAAGCGGCCCGGCCTTGTAACCAAGCCAGACTCTCAGTTTGAC
TTGCACCGTCTCAGGAGGAAGCATTTCAGTGGGGCTTATTATTGGAAGTGGATTGGGCAGCATC
CTGGGAAAGGTTGGAATGGATCGGTTATATTATTATAGCGGTAGCACCTATTCCAATCCGTCT
TTGAAAAGCAGAATCACTATTTCACTCGACACCTCTAAGAACCAGTTCAGTCTCAAAGTGAAGTCC
45 GTGACAGCGGCCGACACAGCTGTGTACTACTGTGCACGGCAAGAAGATTATGGGGGGCTGTTT
GATTATTGGGGCCAAGGCACACTGGTGACAGTATCAAGCGGTGGAGGAGGCTCCGGGGGGCGGA
GGAAGTGGAGGCGGGGGGAGCGAAATTGTGATGACCCAGTCTCCAGCCACGCTGTGAGTGTCT
CCGGGAGAACGCATAACCCTCTCCTGCCGGGCCAGTCAGTCCGTCACGACCGATTTGGCTTGGT
ATCAACAGATGCCTGGGCAGGCCCGCCGCTTGCTGATCTATGACGCCTCCACCAGAGCAACTGG
50 TTTCCCGCCCGGTTACGCGGATCTGGAAGCGGTACAGATTTTACACTTACCATCTCATCATTGC
AAGCTGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCAGCACTACAAGACCTGGCCTTTGACGTTCCGGCGG
CGGAACAAAAGTGGAGATTAAAGAGCCGCTGCCCTCAGTAACTCAATCATGTACTTTAGTCACT
TTGTGCTGTGTTTCTGCCAGCAAAGCCAACAACCACACCCAGCACCCCGCCCTCCAACGCCTGC
CCCAACCATCGCCTCCCAGCCTCTGAGCTTGAGGCCTGAGGCTTGTCGCCCAGCTGCTGGAGG
55 TGCTGTGCATACAGGAGTGGATTTGCGCTGCGATATCTATATCTGGGCACCACTTGCCGGTA
CTTGTTGGTGTGTTGCTGCTCTCACTGGTCAACGCTGTACTGTAACCATAGGAATAGATCCAAA
AGAAGCCGCTGCTCCATAGCGATTACATGAATATGACTCCACGCGCCCTGGCCCCACAAGGA
AACACTACCAGCCTTACGCACCACCTAGAGATTTGCTGCTATCGGAGCCGAGTGAATTTTCT
AGATCAGCTGATGCTCCCGCCTATCAGCAGGGACAGAATCAACTTTACAATGAGCTGAACCTGG
60 GTCCGAGAGAAGAGTACGACGTTTTGGACAAACGCCGGGGCCGAGATCCTGAGATGGGGGGGA

AGCCGAGAAGGAAGAATCCTCAAGAAGGCCTGTACAACGAGCTTCAAAAAGACAAAATGGCTGA
GGCGTACTCTGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGACGAGGCAAGGGTCACGATGGCTTGTA
TCAGGGCCTGAGTACAGCCACAAAGGACACCTATGACGCCCTCCACATGCAGGCACTGCCCCCA
CGCTAG (SEQ ID NO: 83)

5 Конструкція 11F11 CD8 AA (сигнальна послідовність виділена жирним шрифтом)

MALPVTALLPLALLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGAYYWTWIRQHP
GKGLEWIGYIHYSGSTYSNPSLKSRITISLDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARQEDYGGGLFDYWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERITLSCRASQSVTTDLAWYQQMPG
QAPRLIYDASTRATGFPARFSGSGSGTDFTLTISLQAEDFAVYYCQHYKTWPLTFGGGTKVEIKRA
10 AALSNSIMYFSHFVPVFLPAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
IWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
KMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 84)

Людська FLT3 NM_004119 AA

15 MPALARDGGQLPLLVVFSAMIFGTITNQDLPVIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGCA
LRPQSSGTVEYAAAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMT
ETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGE
SCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPLQLFKVGEPLWIRCK
AVHVNHGFGTLWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSA
20 LVTIVEKGFINATNSSEDEYIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNH
KHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRKQVLAESASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCT
EEITEGVWNRKANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGFPFIQDNISF
YATIGVCLLFIVVLTLLICHKYKKQFRYESQLQMVQVTGSSDNEYFYVDFREYEDLKWFEFPRENLEF
GKVLGSGAFGKVMNATAYGISKTGVSIQVAVKMLKEKADSSEREALMSELKMMTQLGSHENIVNLLG
25 ACTLSGPIYLIFEYCCYGDLLNYLRSKREKFHRTWTEIFKEHNFSFYPTFQSHPNSSMPGSREVQIHP
DSDQISGLHGNFSFHSEDEIEYENQKRLIEEEEDLNVLTFEDLLCFAYQVAKGMEFLEFKSCVHRDLAAR
NVLVTHGKVVKICDFGLARDIMSDSNYVVRGNARLPVKWMAPESLFEGIYTIKSDVWSYGILLWEIFSL
GVNPYPGIPVDANFYKLIQNGFKMDQPFYATEEIIYIMQSCWAFDSRKRPSPFNLTSLGCLADAE
AMYQNVGDGRVSECPHTYQNRPFPSREMDLGLLSPQAQVEDS (SEQ ID NO: 85)

30 ДНК з сигнальним пептидом CAR

ATGGCACTCCCCGTAAGTCTGCTGCTGCTGCCGTTGGCATTGCTCCTGCACGCCGCACGCC
CG (SEQ ID NO: 86)

Сигнальний пептид CAR: MALPVTALLPLALLHAARP (SEQ ID NO: 87)

scFv G4S-лінкерна ДНК

35 GGCGGTGGAGGCTCCGGAGGGGGGGGGCTCTGGCGGAGGGGGGCTCC (SEQ ID NO: 88)

scFv G4s лінкер: GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 89)

лінкер scFv Whitlow ДНК

GGGTCTACATCCGGCTCCGGGAAGCCCGGAAGTGGCGAAGGTAGTACAAAGGGG (SEQ ID
NO: 90)

40 лінкер scFv Whitlow: GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 91)

4-1BB послідовність нуклеїнової кислоти (внутрішньоклітинний домен)

AAGCGCGGCAGGAAGAAGCTCCTCTACATTTTAAAGCAGCCTTTTATGAGGCCCGTACAGAC
AACACAGGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCAGATTTCCCGAGGAGGAGGAAGGTGGGTGCGAGCT
G (SEQ ID NO: 92)

45 4-1BB AA (внутрішньоклітинний домен)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO: 93)

OX40 AA

RRDQRLPPDAHNPFGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (SEQ ID NO: 94)

Включення шляхом посилання

50 Усі публікації, патенти та заявки на патент, згадані у даному описі, включені в даний
документ шляхом посилання в тій самій мірі, як якщо б кожна окрема публікація, патент або
заявка на патент були конкретно та окремо вказані для включення шляхом посилання. Проте,
цитування посилання у даному документі не має розглядатися як підтвердження того, що таке
посилання є попереднім рівнем техніки для даного винаходу. Тією ж мірою, у якій будь-яке з
55 визначень або термінів, представлених у посиланнях, включених шляхом посилання,
відрізняється від умов та обговорень, представлених в даному документі, дані правила та
визначення мають переважну силу.

Еквіваленти

60 Наведений вище письмовий опис вважається достатнім для забезпечення здійснення на
практиці даного винаходу спеціалістом у даній галузі. Наведений вище опис та приклади

конкретизують певні переважні варіанти здійснення даного винаходу та описують найкращий режим, розглянутий авторами даного винаходу. Проте, слід розуміти, що незалежно від того, як детально викладено наведене вище в тексті, даний винахід може здійснюватися на практиці багатьма способами, та даний винахід слід тлумачити відповідно до формули винаходу, що

5 додається, та будь-якими її еквівалентами.

Наступні приклади, в тому числі проведені експерименти, досягнуті результати, представлені виключно в ілюстративних цілях та не призначені для обмеження даного винаходу.

Приклад 1

10 Клітини Namalwa, MV4;11 та HL60 (ATCC) та клітини EoL1 (Sigma-Aldrich) культивували у середовищі RPMI1640 (Lonza) + 10 % FBS (Corning) + 1X пеніцилін стрептоміцин L-глутамін (Corning) (R10) та підтримували при щільності клітин від 0,5-2,0 x 10⁶ клітин/мл. Для дослідження експресії FLT3 поверхнею клітин клітини інкубували з антитілом до FLT3 (BD Pharmingen) або антитілом до ізотипового контролю IgG1 (BD Pharmingen) у забарвленому

15 буфері (BD Pharmingen) протягом 30 хвилин при 4 °C. Потім клітини промивали та повторно суспендували у забарвленому буфері з пропідіум йодидом (BD Pharmingen) перед накопиченням даних. Експресію FLT3 на клітини-мішені показано на фіг. 1.

Приклад 2

20 Плазмиди, що кодують промотор T7, конструкцію CAR та послідовність, що стабілізує бета-глобін, лінеаризували шляхом ферментації 10 мкг ДНК з EcoRI та BamHI (NEB) протягом ночі. Потім ДНК ферментували протягом 2 годин при 50 °C з протеїназою K (Thermo Fisher, 600 од./мл) очищували за допомогою фенолу/хлороформу та осаджували шляхом додавання ацетату натрію та двох об'ємів етанолу. Потім пелети висушували, повторно суспендували у воді, що не містить РНКаз/ДНКаз, та виражали кількісно із застосуванням NanoDrop. Потім

25 застосовували один мкг лінійної ДНК для транскрипції in vitro із застосуванням mMESSAGE mMACHINE T7 Ultra (Thermo Fisher), дотримуючись інструкцій виробника. РНК додатково очищували із застосуванням набору MEGAClear (Thermo Fisher), дотримуючись інструкцій виробника, та підраховували за допомогою NanoDrop. Цілісність мРНК оцінювали із застосуванням рухливості на агарозному гелі. РВМС виділяли з лейкопаків здорового донора (Nemasage) із застосуванням центрифугування для підвищення щільності фіколл-пак відповідно до інструкцій виробника. РВМС стимулювали із застосуванням OKT3 (50 нг/мл, Miltenyi Biotec) у середовищі R10 + IL-2 (300 МЕ/мл, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). Через 7 днів після стимуляції Т-клітини двічі промивали у середовищі Opti-MEM (Thermo Fisher Scientific) та повторно суспендували за кінцевої концентрації 2,5×10⁷ клітин/мл у середовищі

35 Opti-MEM. При електропорації застосовували 10 мкг мРНК. Електропорацію клітин здійснювали із застосуванням системи Gemini X2 (Harvard Apparatus BTX) для доставки єдиного імпульсу 400 В протягом 0,5 мс в 2 мм кюветах (Harvard Apparatus BTX). Клітини одразу ж переносили в середовище R10 + IL-2 та залишали для відновлення протягом 6 годин. Для оцінки експресії CAR Т-клітини забарвлювали за допомогою FLT-3-HIS (Sino Biological Inc.) або біотинільованого білка L (Thermo Scientific) у забарвленому буфері (BD Pharmingen) протягом 30 хвилин при 4 °C. Потім клітини промивали та забарвлювали за допомогою anti-HIS-PE (Miltenyi Biotec) або PE Streptavidin (BD Pharmingen) у забарвленому буфері протягом 30 хвилин при 4 °C. Потім клітини промивали та повторно суспендували у забарвленому буфері за допомогою пропідіум йодиду (BD Pharmingen) перед накопиченням даних. Експресію FLT3 CAR

40 в електропорованих Т-клітинах показана на фіг. 2.

Приклад 3

Для оцінки цитолітичної активності в електропорованих FLT3 CAR Т-клітинах ефекторні клітини культивували з клітинами-мішенями при співвідношенні Е:Т 1:1 у середовищі R10. Через 16 годин після спільного культивування надосадкові рідини аналізували шляхом Luminex (EMD Millipore) та життєздатність клітин-мішеней оцінювали шляхом проточного цитометричного аналізу поглинання пропідіум йодиду (PI) CD3-негативними клітинами. Цитолітична активність електропорованих CAR Т-клітин показана на фіг. 3, а утворення цитокінів показано на фіг. 4.

Приклад 4

Вектор переносу лентівірусу третього покоління, який містить різні конструкції CAR, застосовували разом з ViraPower Lentiviral Packaging Mix (Life Technologies) з утворенням лентівірусних надосадкових рідин. Коротко, перетворювальна суміш була утворена шляхом змішування 15 мкг ДНК та 22,5 мкл поліетиленіміну (Polysciences, 1 мг/мл) у 600 мкл середовища OptiMEM. Суміш інкубували протягом 5 хвилин за кімнатної температури. Одночасно 293 Т-клітин (ATCC) трипсинізували, підраховували та усього 10×10⁶ клітин висіювали у посудину T75 разом з перетворювальною сумішшю. Через 3 дні після перетворення

надосадкові рідини збирали та фільтрували через 0,45 мкм фільтр, та зберігали при -80 °C до застосування. PBMC виділяли з лейкопаків здорового донора (Nemasafe) із застосуванням центрифугування для підвищення щільності фіколл-пак відповідно до інструкцій виробника. PBMC стимулювали із застосуванням ОКТ3 (50 нг/мл, Miltenyi Biotec) у середовищі R10 + IL-2 (300 МЕ/мл, Proleukin®, Prometheus® Therapeutics and Diagnostics). Через 48 годин після стимуляції клітини трансфікували із застосуванням лентивірусу при MOI = 10. Клітини витримували при 0,5-2,0 x 10⁶ клітин/мл перед застосуванням аналізів активності. Для оцінки експресії CAR Т-клітини забарвлювали за допомогою FLT-3-HIS (Sino Biological Inc.) або біотинільованого білка L (Thermo Scientific) у забарвленому буфері (BD Pharmingen) протягом 30 хвилин при 4 °C. Потім клітини промивали та забарвлювали за допомогою anti-HIS-PE (Miltenyi Biotec) або PE Streptavidin (BD Pharmingen) у забарвленому буфері протягом 30 хвилин при 4 °C. Потім клітини промивали та повторно суспендували у забарвленому буфері за допомогою пропідіум йодиду (BD Pharmingen) перед накопиченням даних. Експресію FLT3 CAR в Т-клітинах від двох здорових донорів показано на фіг. 5.

Приклад 5

Для оцінки цитолітичної активності у трансфікованих лентивірусом FLT3 CAR Т-клітинах ефекторні клітини культивували з клітинами-мішенями при співвідношенні Е:Т 1:1 у середовищі R10. Через 16 годин після спільного культивування надосадкові рідини аналізували шляхом Luminescence (EMD Millipore) та життєздатність клітин-мішеней оцінювали шляхом проточного цитометричного аналізу поглинання пропідіум йодиду (PI) CD3-негативними клітинами. Середня цитолітична активність трансфікованих лентивірусом CAR Т-клітин від двох здорових донорів показана на фіг. 6, та утворення цитокінів шляхом CAR Т-клітин від кожного здорового донора показано на фіг. 7.

Приклад 6

Для оцінки проліферації CAR Т-клітини у відповідь на експресуючі FLT3 клітини-мішені, Т-клітини відмічали за допомогою CFSE перед спільним культивуванням з клітинами-мішенями у співвідношенні Е:Т 1:1 у середовищі R10. Через 5 днів проліферацію Т-клітин оцінювали шляхом проточного цитометричного аналізу розведення CFSE. Проліферація FLT3 CAR Т-клітин показана на фіг. 8.

Приклад 7

Для оцінки активності проти лейкозу *in vivo* FLT3 CAR Т-клітини генерували для застосування в ксеногенній моделі ГМЛ людини. Експресія CAR різних ефекторних ліній, застосована у ксеногенній моделі ГМЛ людини, показана на фіг. 9. Мічені люциферазою клітини MV4;11 (2x10⁶/тварина) внутрішньовенно вводили самицям мишей NSG 5-6-тижневого віку. Через 6 днів 6x10⁶ Т-клітин (~50% CAR+) в 200 мкл PBS вводили внутрішньовенно та пухлинне навантаження тварин вимірювали щотижня із застосуванням біолюмінесцентної візуалізації. Як показано на фіг. 10, ін'єкція Т-клітин, які експресують 10E3-CD28T та 8B5-CD28T CAR, значно знижувала пухлинне навантаження у всі оцінювані моменти часу. Як показано на фіг. 11, це додатково підтверджувалося аналізом виживання, коли ін'єкція Т-клітин, які експресують 10E3-CD28T або 8B5-CD28T CAR, забезпечувала значну перевагу виживання серед тварин, які одержувати клітини з імітованою трансфекцією або CAR Т-клітини, які експресують конструкції 10E3-CD28 або 10E3-CD8. Значних відмінностей між конструкціями 10E3-CD28T та 8B5-CD28T з точки зору ефективності не спостерігали.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Amgen Inc.

BAKKER, Alice

ХИМЕРНІ РЕЦЕПТОРИ До FLT3 ТА СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> A-2065-WO-PCT

<140> PCT/US17/25613

<141> 31.03.2017

<150> US 62/317 219

5 <151> 01.04.2016

<160> 98

<170> PatentIn версія 3.5

10

<210> 1

<211> 294

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

15

<400> 1

cttgataatg aaaagtcaaa cggaacaatc attcacgtga agggcaagca cctctgtccg 60

tcacccttgt tccctgggcc atccaagcca ttctgggtgt tggctgtagt ggggtggagtc 120

20

ctcgcttgtt actctctgct cgtcaccgtg gcttttataa tcttctgggt tagatccaaa 180

agaagccgcc tgctccatag cgattacatg aatatgactc cagccgccc tggccccaca 240

25 aggaaacact accagcctta cgcaccacct agagatttcg ctgcctatcg gagc 294

<210> 2

<211> 98

30

<212> БІЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 2

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

1 5 10 15

5

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

20 25 30

10 Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

35 40 45

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

15 50 55 60

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

65 70 75 80

20

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

85 90 95

25

Arg Ser

30 <210> 3

<211> 90

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 3

cttgataatg aaaagtcaaa cggaacaatc attcacgtga agggcaagca cctctgtccg 60

5 tcacccttgt tccctgggtcc atccaagcca 90

<210> 4

<211> 30

10 <212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 4

15 Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

1 5 10 15

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

20 20 25 30

<210> 5

<211> 81

25 <212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 5

ttctgggtgt tggctgtagt ggggtggagtc ctcgcttggt actctctgct cgtcaccgtg 60

30

gcttttataa tcttctgggt t 81

<210> 6

<211> 27

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

5

<400> 6

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

1 5 10 15

10

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

15

<210> 7

<211> 123

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

20

<400> 7

agatccaaaa gaagccgcct gctccatagc gattacatga atatgactcc acgccgcct 60

ggccccacaa ggaaacacta ccagccttac gcaccaccta gagatttcgc tgcctatcgg 120

25

agc 123

<210> 8

30

<211> 41

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 8

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

5

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

10

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

15 <210> 9

<211> 336

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

20 <400> 9

agggtgaagt ttccagatc tgcagatgca ccagcgtatc agcagggccca gaaccaactg 60

tataacgagc tcaacctggg acgcaggga gagtatgacg ttttgacaa gcgcagagga 120

25 cgggaccctg agatgggtgg caaaccaaga cgaaaaaacc cccaggaggg tctctataat 180

gagctgcaga aggataagat ggctgaagcc tattctgaaa taggcatgaa aggagagcgg 240

agaaggggaa aagggcacga cggtttgtac cagggactca gcactgctac gaaggatact 300

30

tatgacgctc tccacatgca agccctgcc cctagg 336

<210> 10

<211> 112

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

5

<400> 10

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly

1 5 10 15

10

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

15

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

20

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

25 65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

30

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 11

<211> 117

5 <212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 11

attgaggtga tgtatccacc gccttacctg gataacgaaa agagtaacgg taccatcatt 60

10

cacgtgaaaag gtaaacacct gtgtccttct cccctcttcc cggggccatc aaagccc 117

<210> 12

15 <211> 39

<212> Б/ЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 12

20

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

1 5 10 15

25 Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu

20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

30 35

<210> 13

<211> 288

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

5 <400> 13

gctgcagcat tgagcaactc aataatgtat tttagtcact ttgtaccagt gttcttgccg 60

gctaagccta ctaccacacc cgctccacgg ccacctaccc cagctcctac catcgcttca 120

10 cagcctctgt ccttcgcccc agaggcttgc cgaccggccg cagggggcgc tggtcatacc 180

agaggactgg atttcgcctg cgatatctat atctgggcac ccctggccgg aacctgcggc 240

gtactcctgc tgtccctggg catcacgctc tattgtaatc acaggaac 288

15

<210> 14

<211> 96

<212> БИЛОК

20 <213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Ala Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro

25 1 5 10 15

Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro

20 25 30

30

Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu

35 40 45

Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp

50 55 60

5

Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly

65 70 75 80

10

Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn

85 90 95

15

<210> 15

<211> 381

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

20

<400> 15

caggtcacct tgaaggagtc tggctcctgtg ctggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60

acctgcaccg tctctgggtt ctactcatc aatgctagaa tgggtgtgag ctggatccgt 120

25

cagccccag ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatgc cgaaaaatcg 180

tacaggacat ctctgaagag caggctcacc atctccaagg acacctcaa aagccaggtg 240

gtccttacca tgaccaacat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300

30

ccaggctacg gtggtaacgg ggactaccac tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360

accacggtca ccgtctctc a

381

<210> 16

<211> 127

5 <212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 16

10 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ile Asn Ala

15 20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

20

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys Ser Tyr Arg Thr Ser

50 55 60

25

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val

65 70 75 80

30 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly Asp Tyr His Tyr Tyr

100

105

110

5 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 17

10 <211> 7

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 17

15

Asn Ala Arg Met Gly Val Ser

1

5

20 <210> 18

<211> 16

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

25 <400> 18

His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser

1

5

10

15

30

<210> 19

<211> 17

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 19

5 Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

10

<210> 20

<211> 324

15 <212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 20

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctctaggaga cagagtcacc 60

20

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgct gatctatgct tcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

25 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataataatt tcccgtggac gttcggtcag 300

ggaacgaagg tggaaatcaa acga 324

30

<210> 21

<211> 108

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 21

5

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

10 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

15 35 40 45

Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

20

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

25

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Phe Pro Trp

85 90 95

30 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 22

<211> 11

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

5

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

10

<210> 23

<211> 7

<212> БИЛОК

15 <213> Homo sapiens

<400> 23

Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser

20 1 5

<210> 24

<211> 9

25 <212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 24

30 Leu Gln His Asn Asn Phe Pro Trp Thr

1 5

<210> 25

<211> 375

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

5

<400> 25

caggtcacct tgaaggagtc tggctcctgtg ctgggtgaaac ccacagagac cctcacgctg 60

acctgcaccg tctctgggtt ctactcagg aatgctagaa tgggtgtaag ctggatccgt 120

10

cagcctcccg ggaaggccct ggagtggctt gcacacattt tttcgaatga cgaaaaaacc 180

tacagcacat ctctgaagag caggctcacc atctccaggg acacctcaa aggccaggtg 240

15

gtccttacca tgaccaagat ggaccctgtg gacacagcca catattactg tgcacggata 300

ccctactatg gttcggggag tcataactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360

gtcaccgtct cctca 375

20

<210> 26

<211> 125

<212> БИ/ОК

25

<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu

30

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Arg Asn Ala

20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

5 35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Thr Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

10

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Gly Gln Val

65 70 75 80

15

Val Leu Thr Met Thr Lys Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

20 Cys Ala Arg Ile Pro Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser His Asn Tyr Gly Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

25 115 120 125

<210> 27

<211> 15

30 <212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 27

Ile Pro Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser His Asn Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

5

<210> 28

<211> 324

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

10

<400> 28

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttcg gctggtatca acagaaacca 120

15

gggaaagccc ctgagcgct gctctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

20

gaagattttg caacttatta ctgtctacag tataatactt acccgtggac gttcggtcag 300

ggaacgaagg tggaaatcaa acga 324

25

<210> 29

<211> 108

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

30

<400> 29

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp

20 25 30

5

Phe Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Gln Arg Leu Leu

35 40 45

10

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

15

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Trp

20 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

25

<210> 30

<211> 11

<212> БИЛОК

30

<213> Homo sapiens

<400> 30

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Phe Gly

1 5 10

5 <210> 31

<211> 7

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

10 <400> 31

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

15

<210> 32

<211> 9

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

20

<400> 32

Leu Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Trp Thr

1 5

25

<210> 33

<211> 360

<212> ДНК

30 <213> Homo sapiens

<400> 33

cagatacaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgtag cgtctggatt caccttcaag aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atttggtatg atggaagtaa tgaatactat 180

5

ggagaccccc tgaagggccg attcaccatc tccagagaca actccaagaa catgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gaggtcggga 300

10 atagcagtgg ctggggcctt tgactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 34

<211> 120

15 <212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 34

20 Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Lys Asn Tyr

25 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

30

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Gly Asp Pro Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Leu Tyr

65 70 75 80

5

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

10

Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

15 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 35

20 <211> 17

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 35

25

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Gly Asp Pro Val Lys

1 5 10 15

30 Gly

<210> 36

<211> 11

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

5

<400> 36

Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

10

<210> 37

<211> 327

<212> ДНК

15 <213> Homo sapiens

<400> 37

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aaaagccacc 60

20 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcttct tggcctggta ccagcagaaa 120

cctggacagg ctcccagtct cctcatctat gttgcatcca gaagggccgc tggcatccct 180

gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

25

cctgaagatt ttggaatgtt ttactgtcaa cactatggta ggacaccatt cactttcggc 300

cctgggacca aagtggatat caaacga 327

30

<210> 38

<211> 12

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 38

5 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 39

10 <211> 7

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 39

15

Val Ala Ser Arg Arg Ala Ala

1 5

20 <210> 40

<211> 9

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

25 <400> 40

Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr

1 5

30

<210> 41

<211> 109

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 41

5 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
10 20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu
35 40 45
15

Ile Tyr Val Ala Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
20

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

25 Pro Glu Asp Phe Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
30 100 105

<210> 42

<211> 119

<212> БИ/10K

<213> Homo sapiens

5 <400> 42

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

20 25 30

15 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

20 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

25

Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

30

Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

5

<210> 43

<211> 5

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

10

<400> 43

Gly Tyr Tyr Ile His

1 5

15

<210> 44

<211> 17

<212> БЛОК

20 <213> Homo sapiens

<400> 44

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

25 1 5 10 15

Gly

30

<210> 45

<211> 10

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 45

5

Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp Tyr

1 5 10

10

<210> 46

<211> 342

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

15

<400> 46

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccacca gattatatta tacacctcca acaataagaa cttcttagct 120

20

tggtaccagc agaaaccagg gcagcctcct aaactgtca tttcctgggc atctatccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cgctctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcaacaata ttttagtact 300

25

atgttcagtt ttggccaggg gaccaagctg gagatcaaac ga 342

<210> 47

30

<211> 114

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 47

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

5

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr

20 25 30

10

Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

15 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr

20 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

25

Tyr Phe Ser Thr Met Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

30

Lys Arg

<210> 48

<211> 17

<212> БЛОК

5 <213> Homo sapiens

<400> 48

Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn Phe Leu

10 1 5 10 15

Ala

15

<210> 49

<211> 7

<212> БЛОК

20 <213> Homo sapiens

<400> 49

Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser

25 1 5

<210> 50

<211> 9

30 <212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met Phe Ser

1 5

5

<210> 51

<211> 360

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

10

<400> 51

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtggatgcac actactggac ttgatccgc 120

15

cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt ggtacatcc attacagtgg gagcacctac 180

tccaaccgt cctcaagag tcgaattacc atatcgtag acacgtctaa gaaccagttc 240

20

tcctgaagc tgaactctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagacaa 300

gaggactacg gtggtttgtt tgactactgg ggccaggga cctgggtcac cgtttcctca 360

25

<210> 52

<211> 120

<212> Б/ЛОК

<213> Homo sapiens

30

<400> 52

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

5

Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

10

Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Asn Pro Ser

50 55 60

15 Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

20 85 90 95

Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

25

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

30

<210> 53

<211> 7

<212> БІЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 53

5 Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr
1 5

<210> 54

10 <211> 16

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 54

15

Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

20 <210> 55

<211> 10

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

25 <400> 55

Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

30

<210> 56

<211> 324

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 56

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagaatcacc 60

5

ctctcctgca gggccagtca gagtgttacc accgacttag cctggtacca gcagatgcct 120

ggacaggctc cccggctcct catctatgat gcttcacca gggccactgg tttccagcc 180

10 agattcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcacgctca ccatcagcag cctgcaggct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcaacat tataaaacct ggcctctcac tttcggcgga 300

gggactaagg tggagatcaa acga 324

15

<210> 57

<211> 108

<212> БИЛОК

20 <213> Homo sapiens

<400> 57

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

25 1 5 10 15

Glu Arg Ile Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp

20 25 30

30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

5

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala

65 70 75 80

10

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu

85 90 95

15 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 58

20 <211> 11

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 58

25

Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala

1 5 10

30 <210> 59

<211> 7

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 59

Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr

5 1 5

<210> 60

<211> 9

10 <212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 60

15 Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 61

20 <211> 1482

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 61

25 atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggatga ccctcaaaga gtctggaccc gtgctcgtaa aacctacgga gaccctgaca 120

ctcacctgca cagtctccgg cttcagcctc atcaatgcca ggatgggagt ttctggatc 180

30

aggcaaccgc ccggaaggc cctggaatgg ctgcacata tttcagtaa cgctgaaaaa 240

agctatcgga cttctctgaa aagtcggctc acgattagta aggacacatc caagagccaa 300

gtggtgctta cgatgactaa catggaccct gtggatactg caacctatta ctgtgctcga 360

atccctgggt atggcggaat tggggactac cactactacg gtatggatgt ctggggccaa 420

5 gggaccacgg ttactgtttc aagcggaggg ggaggaggatg ggggtggcgg atctggcggg 480

ggaggcagcg atatccagat gacgcagtcc cctagttcac tttccgcatc cctgggggat 540

10 cgggttacca ttacatgccg cgcgtcacag ggtatccgga atgatctggg atggtaccag 600

cagaagccgg gaaaggctcc taagcgctc atctacgcca gctccaccct gcagagtgga 660

gtgccctccc gggtttcagg cagtggctcc ggtacggagt ttactcttac aattagcagc 720

15 ctgcagccag aagatgttgc aacttactac tgtttgcagc ataataattt ccctggacc 780

tttggtcagg gcaccaaggt ggagatcaaa agagcagccg ccatcgaagt aatgtatccc 840

20 ccccggtacc ttgacaatga gaagtcaaat ggaaccatta tccatgttaa gggcaaacac 900

ctctgccctt ctccactgtt ccctggccct agtaagccgt tttgggtgct ggtggtagtc 960

ggtaggggtgc tggcttgta ctctcttctc gtgaccgtcg cttttataat cttttgggtc 1020

25 agatccaaaa gaagccgcct gctccatagc gattacatga atatgactcc acgccgcct 1080

ggccccacaa ggaaacacta ccagccttac gcaccaccta gagatttcgc tgcctatcgg 1140

30 agccgagtga aattttctag atcagctgat gctccgcct atcagcaggg acagaatcaa 1200

ctttacaatg agctgaacct gggtcgaga gaagagtacg acgttttgga caaacgccgg 1260

ggccgagatc ctgagatggg ggggaagccg agaaggaaga atcctcaaga aggcctgtac 1320

aacgagcttc aaaaagacaa aatggctgag gctactctg agatcggcat gaagggcgag 1380

5 cggagacgag gcaagggtca cgatggcttg tatcagggcc tgagtacagc cacaaggac 1440

acctatgacg ccctccacat gcaggcactg cccccacgt ag 1482

10 <210> 62

<211> 493

<212> БИ/10K

<213> Homo sapiens

15 <400> 62

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

20

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

25 Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

30 50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys

65 70 75 80

Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr

5 85 90 95

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

10

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly

115 120 125

15

Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

130 135 140

20 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

25 165 170 175

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile

180 185 190

30

Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

195 200 205

Arg Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

210 215 220

5

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

225 230 235 240

10

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn

245 250 255

15

Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala

260 265 270

Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys

20 275 280 285

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser

290 295 300

25

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val

305 310 315 320

30

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile

325 330 335

Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr

340

345

350

5

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln

355

360

365

10

Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys

370

375

380

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

15

385

390

395

400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

405

410

415

20

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

420

425

430

25

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

435

440

445

30

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

450

455

460

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

465 470 475 480

5 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485 490

<210> 63

10 <211> 1455

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 63

15 atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaagtta ctttgaagga gtctggacct gtactggtga agccaaccga gacactgaca 120

ctcacgtgta cagtgagtgg ttttccttg atcaacgcaa ggatgggcgt cagctggatc 180

20

aggcaacccc ctggcaaggc tctggaatgg ctgctcaca tattcagcaa tgccgaaaaa 240

agctaccgga caagcctgaa atcccgctg actatttcca aggacacttc taagtctcag 300

25 gtggtgctga ccatgaccaa catggacccg gtggacaccg ccacctatta ctgcgcaaga 360

atccctgggt atggtgggaa tggtgactac cattattatg ggatggatgt gtgggggcaa 420

ggcacaaccg taacggtctc aagcgggtggg ggaggctcag ggggcggagg ctccggagggt 480

30

ggcggctccg acattcagat gacccaaagc ccgtccagcc tgtccgccag cctgggagat 540

agagtgacaa tcacgtgtag agcttcccaa gggataagaa atgatctcgg gtggtatcag 600

cagaagcccg gcaaagcccc caaaaggctt atatatgcta gtagtacact gcagtctgga 660

gttccttccc gattttcagg tagcggctcc ggtacagagt tcaccctcac gataagctca 720

5 ctccagcctg aggatttcgc aacgtactac tgcctccagc acaacaattt tcctggact 780

ttcggccagg gcaccaaggt ggagatcaag agggccgctg cccttgataa tgaagagtc 840

10 aacggaacaa tcattcacgt gaagggaag cacctctgtc cgccaccctt gttccctggt 900

ccatccaagc cattctgggt gttggtcgta gtgggtggag tcctcgcttg ttactctctg 960

ctcgtcaccg tggcttttat aatcttctgg gttagatcca aaagaagccg cctgctccat 1020

15 agcgattaca tgaatatgac tccacgccgc cctggcccca caaggaaaca ctaccagcct 1080

tacgcaccac cttagatatt cgctgcctat cggagccgag tgaattttc tagatcagct 1140

20 gatgctccc cctatcagca gggacagaat caactttaca atgagctgaa cctgggtcgc 1200

agagaagagt acgacgtttt ggacaaacgc cggggccgag atcctgagat gggggggaag 1260

ccgagaagga agaattctca agaaggcctg tacaacgagc ttcaaaaaga caaatggct 1320

25 gaggcgtact ctgagatcgg catgaagggc gagcggagac gaggaaggg tcacgatggc 1380

ttgtatcagg gcctgagtac agccacaaag gacacctatg acgccctcca catgcaggca 1440

30 ctgccccac gctag 1455

<210> 64

<211> 484

<212> БИ/10K

<213> Homo sapiens

5 <400> 64

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

10

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

15 Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

35 40 45

Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

20 50 55 60

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys

65 70 75 80

25

Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr

85 90 95

30

Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly

115 120 125

5

Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

130 135 140

10 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

15 165 170 175

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile

180 185 190

20

Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

195 200 205

25

Arg Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

210 215 220

30 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

225 230 235 240

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn

245 250 255

5 Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala

260 265 270

Ala Ala Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys

10 275 280 285

Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

290 295 300

15

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

305 310 315 320

20

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser

325 330 335

25 Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly

340 345 350

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala

30 355 360 365

Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala

370 375 380

Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg

5 385 390 395 400

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu

405 410 415

10

Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn

420 425 430

15

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

435 440 445

20 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

450 455 460

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

25 465 470 475 480

Leu Pro Pro Arg

30

<210> 65

<211> 1563

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 65

5 atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagggtga cactcaagga atcagggccc gtactggtga aacctactga gaccctgaca 120

ctgacttgca ccgtgtctgg gttctctctg attaacgctc gaatgggtgt gaggttggata 180

10 cgccagcctc caggaagggc tctggagtgg ttggcccaca ttttctcaa cgccgagaag 240

agctacagga ctagtctgaa gtccagactt accatttcca aagacacaag taaatcacag 300

15 gtggtgctga caatgacaaa catggacccg gttgatactg ctacctatta ttgtccccgc 360

attccccgct acggcggcaa tggcgactat cactattatg gtatggatgt ctggggggcag 420

gggaccactg ttaccgtgtc cagcgggggt ggtggcagcg gaggtggagg gagcgggtggt 480

20 ggggggagtg atattcagat gaccagagc cctagctctc ttccgcttc tctgggcgat 540

agagtcacca tcacctgccg ggcctctcaa ggcacccgga acgatcttgg atggtatcag 600

25 cagaagcccg gcaaggcacc aaaaaggctg atctacgcat caagcacct gcaatctggg 660

gtgccgtccc ggttttctgg ttctggtagt gggaccgagt ttactctgac tatttcttcc 720

ctgcagcctg aggactttgc tacgtactat tgtctgcagc ataacaactt cccctggacg 780

30 ttggggcagg gtacgaaagt ggaaattaag cgcgccgccg ccctgtcaa ctccattatg 840

tatttctctc attttgtccc agtgttctg cccgctaaac ccacaactac tccggcgccc 900

cgaccgcaa ctcccgacc taccatcgca agccagccat tgagcctccg acctgaggca 960

tgtagaccag cagccggcgg tgccgtgcac acaaggggac tggatttcgc ctgcgacata 1020

5 tatatttggg cccctctggc tggaacctgt ggggttctgc tgctctctct cgttattaca 1080

ctgtattgca atcatcgcaa tagatcaaaa agaagccgcc tgctccatag cgattacatg 1140

10 aatatgactc cagccgccc tggccccaca aggaacact accagcctta cgcaccacct 1200

agagatttcg ctgcctatcg gagccgagtg aaattttcta gatcagctga tgctcccgcc 1260

tatcagcagg gacagaatca actttacaat gagctgaacc tgggtcgcag agaagagtac 1320

15 gacgttttgg acaaacgccg gggccgagat cctgagatgg gggggaagcc gagaaggaag 1380

aatcctcaag aaggcctgta caacgagctt caaaaagaca aaatggctga ggcgtactct 1440

20 gagatcggca tgaagggcga gcggagacga ggcaagggtc acgatggctt gtatcagggc 1500

ctgagtacag ccacaaagga cacctatgac gccctccaca tgcaggcact gccccacgc 1560

tag 1563

25

<210> 66

<211> 520

<212> БИЛОК

30 <213> Homo sapiens

<400> 66

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

5 His Ala Ala Arg Pro Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu

20 25 30

Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe

10 35 40 45

Ser Leu Ile Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro

50 55 60

15

Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Ala Glu Lys

65 70 75 80

20

Ser Tyr Arg Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr

85 90 95

25 Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp

100 105 110

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Pro Gly Tyr Gly Gly Asn Gly

30 115 120 125

Asp Tyr His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

130 135 140

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

5 145 150 155 160

Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

165 170 175

10

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile

180 185 190

15

Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

195 200 205

20 Arg Leu Ile Tyr Ala Ser Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg

210 215 220

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

25 225 230 235 240

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn

245 250 255

30

Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala

260 265 270

Ala Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val

275 280 285

5

Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr

290 295 300

10

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala

305 310 315 320

15

Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe

325 330 335

Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val

20

340 345 350

Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg

355 360 365

25

Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

370 375 380

30

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

385 390 395 400

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala

405 410 415

5

Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu

420 425 430

10 Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly

435 440 445

Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu

15 450 455 460

Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser

465 470 475 480

20

Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly

485 490 495

25

Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu

500 505 510

30 His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

515 520

<210> 67

<211> 1464

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

5

<400> 67

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagatcc agttgggtgga atcagggggc ggtgtggtgc agccgggtag gagcctgaga 120

10

ctgtcatgcg tggcgtctgg cttcacattc aagaactacg gcatgcactg ggtgcgacag 180

gccccggaa agggtttggg gtgggtcgcc gtgatctggt acgacggatc taatgagtat 240

15

tacggagatc ctgtgaaggg aaggttcacc atctcccgcg acaatagcaa aaatatgctc 300

tacctgcaaa tgaactcact cagggcggat gatacggcgg tctactattg cgctcgctca 360

gggattgctg tggccggcgc attcgattac tggggacagg gtaccctggt gacagtatca 420

20

agcggaggcg gcggctctgg cggcggcgga tctggcgggg ggggaagtga gattgtgttg 480

acacagtctc ccgataacct gtcactgtca cccggcgaga aggcaacgct gagttgcaga 540

25

gcaagccagt cagtctctc ttcttttctg gcctggtatc agcaaaaacc aggtcaggca 600

ccatctctcc tgatttacgt tgccagcaga cgggcggctg gcattcccga caggttctct 660

ggaagcggat ctgggaccga tttaccctg acaattagcc gcttgagacc cgaagacttt 720

30

ggtatgtttt actgccagca ctacggaagg acaccttca catttgccc gggcacgaaa 780

gtcgatataa aacgcgcagc cgccattgaa gtaatgtacc caccacctta tttggacaat 840

gaaaagtcca atggtacatc tattcacgtc aagggaagc atctctgtcc aagccctctg 900

ttccccggcc cctccaaacc attctgggtg ctggtggtcg tcggcggagt tctggcctgc 960

5 tattctctgc tcgtgactgt tgcattcatc attttctggg tgagatcaa aagaagccgc 1020

ctgtccata gcgattacat gaatatgact ccacgccgcc ctggcccccac aaggaaacac 1080

10 taccagcctt acgcaccacc tagagatttc gctgcctatc ggagccgagt gaaattttct 1140

agatcagctg atgctcccg cttacgagc ggacagaatc aactttaca tgagctgaac 1200

ctgggtcgca gagaagagta cgacgttttg gacaaacgcc ggggcccaga tcctgagatg 1260

15 ggggggaagc cgagaaggaa gaatcctcaa gaaggcctgt acaacgagct tcaaaaagac 1320

aaaatggctg aggcgtactc tgagatcggc atgaagggcg agcggagacg aggcaagggt 1380

20 cacgatggct tgtatcaggg cctgagtaca gccacaaagg acacctatga cgcctccac 1440

atgcaggcac tgccccacg ctag 1464

25 <210> 68

<211> 487

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

30 <400> 68

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

20 25 30

5

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe

35 40 45

10

Thr Phe Lys Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

15 Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr

65 70 75 80

Tyr Gly Asp Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

20 85 90 95

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr

100 105 110

25

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe

115 120 125

30

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu

145 150 155 160

5

Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Lys Ala Thr

165 170 175

10 Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp

180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Val Ala

15 195 200 205

Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210 215 220

20

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe

225 230 235 240

25

Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly

245 250 255

30 Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Ala Ala Ala Ile Glu Val Met

260 265 270

Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile

275 280 285

5 His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro

290 295 300

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

10 305 310 315 320

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

325 330 335

15

Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

340 345 350

20

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

355 360 365

25 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

370 375 380

Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn

30 385 390 395 400

Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

405 410 415

Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly

5 420 425 430

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu

435 440 445

10

Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

450 455 460

15

Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His

465 470 475 480

20 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

<210> 69

25 <211> 1437

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 69

30 atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagattc agctcgtgga gtcaggtggt ggcgtgggtc agcccggacg gtcctgcga 120

ctctcttggtg tggcaagcgg atttaccttt aagaactatg gcatgcactg ggtgaggcag 180

gcccctggaa aaggactgga gtgggttgct gtgatctggt acgacgggtc caacgaatat 240

5 tatggcgatc ctgtgaaggg acggtttaca atctcacgcg ataactcaaa gaacatgctg 300

tacctgcaaa tgaactctct gcgcgctgat gacactgccg tgtattattg cgctcggagt 360

ggtatcgccg tcgcaggagc atttgattat tgggggcaag ggaccctcgt gacagtgagt 420

10 tccggagggg gaggttctgg tggaggcggc tctggtgggg gaggcagcga gatcgttctg 480

accagtcctc ctgacacact gtactgtcc cctggtgaaa aggccacact gtctttaga 540

15 gcgtcccaga gcgtttccag ttccttcctt gcatggtatc aacaaaaacc cgggcaggct 600

ccaagcttgc tgatctacgt ggccagccgc cgggccgcag gcatccctga taggttttagc 660

ggttctggga gcgggacgga cttcaccttg acaatatcac ggctggaacc cgaagacttc 720

20 ggaatgtttt attgccagca ctacggaaga actccattca cctttggccc gggaacgaag 780

gtagacatca agagagcagc agccctcgac aacgagaaat ccaatggaac cattatccat 840

25 gtgaagggga aacatctctg cccttcacca ttgttcctg gaccagcaa gcctttttgg 900

gttctggtcg tggtaggggg cgctctggct tgttactccc tcctcgttac agtcgccttc 960

ataatctttt gggtagatc caaaagaagc cgctgctcc atagcgatta catgaatatg 1020

30 actccagccc gccctggccc cacaaggaaa cactaccagc cttacgcacc acctagagat 1080

ttcgtgcct atcggagccg agtgaaattt tctagatcag ctgatgctcc cgcctatcag 1140

caggacaga atcaacttta caatgagctg aacctgggtc gcagagaaga gtacgacgtt 1200

ttggacaaac gccggggccg agatcctgag atggggggga agccgagaag gaagaatcct 1260

5

caagaaggcc tgtacaacga gcttcaaaaa gacaaaatgg ctgaggcgta ctctgagatc 1320

ggcatgaagg gcgagcggag acgaggcaag ggacacgatg gcttgatca ggcctgagt 1380

10 acagccacaa aggacaccta tgacgcctc cacatgcagg cactgcccc acgctag 1437

<210> 70

<211> 478

15 <212> БЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 70

20 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

25 20 25 30

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe

35 40 45

30

Thr Phe Lys Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr

65 70 75 80

5

Tyr Gly Asp Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

85 90 95

10

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr

100 105 110

15 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe

115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

20 130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu

145 150 155 160

25

Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Lys Ala Thr

165 170 175

30

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp

180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Val Ala

195 200 205

5

Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210 215 220

10 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe

225 230 235 240

Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly

15 245 250 255

Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Asp Asn Glu

260 265 270

20

Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro

275 280 285

25

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val

290 295 300

30 Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe

305 310 315 320

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp

325 330 335

5 Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr

340 345 350

Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val

10 355 360 365

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn

370 375 380

15

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val

385 390 395 400

20

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg

405 410 415

25 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys

420 425 430

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg

30 435 440 445

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys

450 455 460

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

5 465 470 475

<210> 71

<211> 1545

10 <212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 71

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

15

ccgcagatac agcttgtcga atccgggtggc ggggtgggtgc agcctggacg cagcctgcgg 120

ctttcttgcg tggccagcgg atttaccttc aagaactacg ggatgcattg ggtccgccag 180

20

gcacccggca aaggccttga gtgggttgca gtgatctggt acgacggcag taacgagtat 240

tatggcgacc ccgtgaaggg aaggtttact atttcaagag ataatagtaa gaacatgttg 300

tatctgcaaa tgaacagtct gagagcggac gacactgccg tgtactactg tgctcgctcc 360

25

ggcatcgctg tggcaggggc ctttgactac tggggtcagg ggacgctggt cacggttagt 420

tccgggggcg gtggttccgg aggaggcggg tccggcggcg gcggatcaga aatcgttctt 480

30

actcagagtc ccgatacgct gtccttgtct ccgggagaaa aagccacact gagctgccga 540

gcctcacagt cagtaagttc ttattcctc gcctggtacc agcaaaaacc ggggcaggcc 600

ccttcctgc ttatctacgt ggcctctagg agagccgccg gtattcctga ccggttcagc 660

ggaagtgggt ccgggactga ttttacgctc acgatctccc gattggagcc cgaggatttc 720

5 gggatgttct actgtcagca ttatggaaga acgcccttta ccttcgggtcc gggaactaag 780

gttgatatta agcgggctgc tgcccttagc aactccatca tgtatttttc tcacttcgtg 840

ccagtattcc tgccagccaa accgaccaca accccagcac ctagacctcc tactcccgtc 900

10 cccacatag cttcacagcc gctgagtttg aggccagagg cctgtcggcc tgctgcaggc 960

ggagcagttc acaccagggg acttgacttt gcatgtgaca tctatatttg ggctccactg 1020

15 gcgggaacct gcggggtgct cttttgtca ctcgttatca cactgtattg caatcatagg 1080

aatagatcca aaagaagccg cctgtccat agcgattaca tgaatatgac tccacgccgc 1140

cctggcccca caaggaaaca ctaccagcct tacgcaccac ctagagattt cgctgcctat 1200

20 cggagccgag tgaaattttc tagatcagct gatgtctccg cctatcagca gggacagaat 1260

caactttaca atgagctgaa cctgggtcgc agagaagagt acgacgtttt ggacaaacgc 1320

25 cggggccgag atcctgagat gggggggaag ccgagaagga agaatcctca agaaggcctg 1380

tacaacgagc ttcaaaaaga caaatggct gaggcgtact ctgagatcgg catgaagggc 1440

gagcggagac gaggcaaggg tcacgatggc ttgtatcagg gcctgagtac agccacaaag 1500

30 gacacctatg acgccctcca catgcaggca ctgccccac gctag 1545

<210> 72

<211> 514

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

5

<400> 72

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

10

His Ala Ala Arg Pro Gln Ile Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val

20 25 30

15

Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe

35 40 45

20 Thr Phe Lys Asn Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr

25 65 70 75 80

Tyr Gly Asp Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser

85 90 95

30

Lys Asn Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Ala Phe

115 120 125

5

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

10

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu

145 150 155 160

15 Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Lys Ala Thr

165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala Trp

20 180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu Ile Tyr Val Ala

195 200 205

25

Ser Arg Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

210 215 220

30

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe

225 230 235 240

Gly Met Phe Tyr Cys Gln His Tyr Gly Arg Thr Pro Phe Thr Phe Gly

245 250 255

5

Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Ser Asn Ser

260 265 270

10 Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro

275 280 285

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

15 290 295 300

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly

305 310 315 320

20

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile

325 330 335

25

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val

340 345 350

30 Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

355 360 365

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

370 375 380

5 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

385 390 395 400

Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln

10 405 410 415

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu

420 425 430

15

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

435 440 445

20

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu

450 455 460

25 Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

465 470 475 480

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

30 485 490 495

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro

500

505

510

Pro Arg

5

<210> 73

<211> 1476

10

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 73

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

15

ccgcaggtgc agctggtgca gagtggggca gaagtaaaga agcctggtgc ctctgtcaaa 120

gttagttgca aagcatctgg gtatactttc accggttact atatcattg gggtcggcag 180

20

gccccggagc agggactgga gtggatgggc tggatcaacc caaattcagg cggcactaac 240

tatgtcaaaa agttccaggg cagggtcaca atggcccggg atacttcaat tagcaccgtc 300

tatatggatc ttagtcggct gcgcagtgac gataccgctg tctactattg cgcaaggatc 360

25

aggggaggca attctgtttt tgactattgg ggccagggaa cactggtgac cgtctcctct 420

ggtaggagcg gtagtgggtg aggcgggtcc ggaggagggg gctccgatat agtgatgact 480

30

caaagtcccg atagcttggc agtatctctt gggaacgcg ccactattaa ctgtaaatcc 540

accagtcca ttctctatac ctctaacaac aagaatttcc tcgctggta tcagcaaaaa 600

cccgggcagc cacctaaact gcttatatcc tgggccagca tcaggagtc cggcgtcct 660
 gatcggttca gcggtagtgg cagcgggaca gacttcgctc tgaccatcag tagcctccag 720
 5 gctgaagatg tcgcagtgtg ttattgccag cagtacttca gcacgatgtt tagcttcggg 780
 cagggaacca agctggaaat aaagagagct gcagcaatcg aggtgatgta cccacctcca 840
 tatctggaca atgaaaagtc caatggcact atcatacacg tgaagggcaa acacctgtgt 900
 10 ccatctccac ttttccggg cccgtctaaa ctttctggg tgctggtggt ggtgggcgga 960
 gttctggcct gttattcact gctggtcacc gtggctttca tcatttttg ggtaagatcc 1020
 15 aaaagaagcc gcctgtcca tagcgattac atgaatatga ctccacgccg ccctggcccc 1080
 acaaggaaac actaccagcc ttacgcacca cctagagatt tcgctgccta tcggagccga 1140
 gtgaaatfff ctatgcagc tgatgctccc gcctatcagc agggacagaa tcaactttac 1200
 20 aatgagctga acctgggtcg cagagaagag tacgacgttt tggacaaacg ccggggccga 1260
 gatcctgaga tgggggggaa gccgagaagg aagaatcctc aagaaggcct gtacaacgag 1320
 25 cttcaaaaag aaaaatggc tgaggcgtac tctgagatcg gcatgaaggg cgagcggaga 1380
 cgaggcaagg gtcacgatgg cttgtatcag ggcctgagta cagccacaaa ggacacctat 1440
 gacgccctcc acatgcaggc actgccccca cgctag 1476
 30
 <210> 74
 <211> 491

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 74

5

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

10 His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

15 35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln

50 55 60

20

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

25

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser

85 90 95

30 Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp

115 120 125

5 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

10 145 150 155 160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165 170 175

15

Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn

180 185 190

20

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

195 200 205

25 Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

30 225 230 235 240

Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met

245 250 255

Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala

5 260 265 270

Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn

275 280 285

10

Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu

290 295 300

15

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly

305 310 315 320

20 Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe

325 330 335

Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn

25 340 345 350

Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr

355 360 365

30

Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser

370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr

385 390 395 400

5

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys

405 410 415

10

Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn

420 425 430

15

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu

435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly

20

450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr

465 470 475 480

25

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485 490

30

<210> 75

<211> 1449

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 75

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60
5
ccgcaggtac agctggtgca gagcggggcc gaggtcaaaa agcccggggc ttcagttaag 120
gtagctgca aggcttccgg ctacaccttt accggttact atattcactg ggtagacag 180
10 gcacctgagc aaggactgga gtggatgggg tggattaacc ccaatagcgg tgggaccaac 240
tacgcccaga agtttcaagg ccgagtgaca atggcacgag acacctccat ttccactgtg 300
tacatggact tgagccgcct caggtcagac gacaccgcag tgtactactg tgcgcgaatc 360
15 cgcgccggaa acagcgtgtt tgactactgg ggtcagggca cgttggtgac cgtgtcttcc 420
ggaggggggg gatctggtgg cgggggctcc ggcggaggcg gtagtgatat tgtgatgact 480
20 cagtcaccgg acagtcttgc tgtttcactt ggtgagaggg ccaccataaa ttgtaaaagc 540
accagagca ttctctacac atctaacaac aaaaatttcc tggcctggta ccagcagaag 600
cccgacagc cacccaaatt gctgattagc tgggccagca ttcgagaatc tggggttccg 660
25 gaccgctttt ccgggtctgg ctctgggacc gacttcgctt tgaccataag ctctcttcag 720
gccgaagacg tcgcagtata ctattgtcaa cagtattttt ctacatgtt ttccttcggc 780
30 cagggaaacta agttggagat caagagagca gctgcattgg ataagagaa gtccaatggc 840
actattatcc acgtgaaagg taaacacctg tgtccctcac ccctgtttcc aggacctagt 900

aaaccattct gggcttgggt ttagtcggg ggcgttttg catgttattc cttcttgtg 960

acagtcgcct ttatcatttt ctgggtgaga tccaaaagaa gccgcctgct ccatagcgat 1020

5 tacatgaata tgactccacg ccgccctggc cccacaagga aacactacca gccttacgca 1080

ccacctagag atttcgtgc ctatcgagc cgagtgaat tttctagatc agctgatgct 1140

ccgcctatc agcagggaca gaatcaactt tacaatgagc tgaacctggg tcgcagagaa 1200

10

gagtacgacg ttttgacaa acgccggggc cgagatcctg agatgggggg gaagccgaga 1260

aggaagaatc ctcaagaagg cctgtacaac gagcttcaa aagacaaaat ggctgaggcg 1320

15 tactctgaga tcggcatgaa gggcgagcgg agacgaggca agggtcacga tggcttgat 1380

cagggcctga gtacagccac aaaggacacc tatgacgcc tccacatgca ggcactgccc 1440

ccacgctag 1449

20

<210> 76

<211> 482

<212> БИ/ОК

25 <213> Homo sapiens

<400> 76

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

30 1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

5 35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln

50 55 60

10

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

65 70 75 80

15

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser

85 90 95

20 Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp

25 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

30

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

145 150 155 160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165 170 175

5

Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn

180 185 190

10

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

195 200 205

15 Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

20 225 230 235 240

Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met

245 250 255

25

Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala

260 265 270

30

Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys

275 280 285

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

290 295 300

5

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val

305 310 315 320

10 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu

325 330 335

Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

15 340 345 350

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

355 360 365

20

Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln

370 375 380

25

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu

385 390 395 400

30 Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

405 410 415

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu

420

425

430

5 Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly

435

440

445

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

10

450

455

460

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro

465

470

475

480

15

Pro Arg

20

<210> 77

<211> 1557

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

25

<400> 77

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaagttc agcttgtgca gagcggagct gaggtgaaaa aaccaggcgc ctccgttaag 120

30

gtgtcttgca aagccagcgg atacacattt accgggtact atattcactg ggtgaggcag 180

gccctgaac agggccttga atggatgggg tggatcaatc caaattccgg gggaaccaat 240

tatgctcaga aatttcaggg cagagtgaca atggccaggg acacctcaat cagcacagtc 300

tacatggacc tgagccgcct gaggtctgat gacacagccg tctactactg tgcccggatc 360

5 agagggggaa acagtgtctt cgactattgg gggcagggaa ccttggtgac tgtctcctcc 420

gggggagggg gtagcggggg aggcggcagc ggcgggggtg gttctgacat tgttatgacc 480

10 caatccccag actctctggc cgtgagcctg ggtgagagag ccaccatcaa ttgcaagtcc 540

accagagca tactctatac gtcaaacaat aagaatttcc tggcgtggta tcagcaaaag 600

ccgggtcaac cacccaagtt gttgattagc tgggcatcaa ttcgagaatc tggcgtcctt 660

15 gataggttta gcgggagcgg tagtggaacc gactttgcgc tgaccatttc atcccttcag 720

gcagaggacg tggctgtgta ttactgtcaa cagtacttca gcacgatgtt ttctttcggc 780

20 caggggacga agctggagat aaagcgggcc gcagcactca gcaacagcat catgtacttt 840

tctcatttcg tccagtttt tctccccgcc aaaccacca ctaccctgc tctagtcct 900

ccactcccg caccaccat tgcttccaa cctctgtcat tgaggcccga agcctgcaga 960

25 cctgccgcag gaggggctgt gcacaccgc ggtctggatt ttgcttgtga tatctacatt 1020

tgggcccctt tggccggaac ctgcggagtg ttgttgctga gccttggtat cacgttgtag 1080

30 tgtaatcaca gaaacagatc caaaagaagc cgctgtctcc atagcgatta catgaatatg 1140

actccagcc gccctggccc cacaaggaaa cactaccagc cttacgcacc acctagagat 1200

ttcgtgcct atcggagccg agtgaaattt tctagatcag ctgatgctcc cgcctatcag 1260

caggacaga atcaacttta caatgagctg aacctgggtc gcagagaaga gtacgacgtt 1320

5 ttgacaaac gccggggccg agatcctgag atggggggga agccgagaag gaagaatcct 1380

caagaaggcc tgtacaacga gcttcaaaaa gacaaaatgg ctgaggcgta ctctgagatc 1440

ggcatgaagg gcgagcggag acgaggcaag ggtcacgatg gcttgatca gggcctgagt 1500

10

acagccacaa aggacaccta tgacgccctc cacatgcagg cactgcccc acgctag 1557

<210> 78

15 <211> 518

<212> БИ/ЮК

<213> Homo sapiens

<400> 78

20

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

25 His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val

20 25 30

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr

30 35 40 45

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn

5 65 70 75 80

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Ala Arg Asp Thr Ser

85 90 95

10

Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr

100 105 110

15

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Arg Gly Gly Asn Ser Val Phe Asp

115 120 125

20 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr

25 145 150 155 160

Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile

165 170 175

30

Asn Cys Lys Ser Thr Gln Ser Ile Leu Tyr Thr Ser Asn Asn Lys Asn

180 185 190

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu

195 200 205

5

Ile Ser Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

210 215 220

10

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln

225 230 235 240

15 Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ser Thr Met

245 250 255

Phe Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala

20 260 265 270

Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu

275 280 285

25

Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala

290 295 300

30

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

305 310 315 320

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys

325 330 335

5

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu

340 345 350

10 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Ser Lys

355 360 365

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

15 370 375 380

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

385 390 395 400

20

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

405 410 415

25

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

420 425 430

30 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

435 440 445

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu

450 455 460

5 Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

465 470 475 480

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr

10 485 490 495

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met

500 505 510

15

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

515

20

<210> 79

<211> 1461

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

25

<400> 79

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtag agctccaaga gtcaggacca ggacttgta aaccaagcca gaccctcagc 120

30

cttacctgca ccgtcagcgg gggctccatc agctctgggg ttactactg gacatggata 180

cgacagcatc ccggtaaagg tctggagtgg atcgggtaca tacatatag tggttccaca 240

tattctaatt catctcttaa gagtcgaatt acaatttcac tcgatacttc aaagaatcag 300

ttcagcttga aactgaactc cgtgaccgcg gctgacaccg ccgtgtacta ctgtgcacgc 360

5 caagaggatt atggcggact gttcgattat tgggggcagg gaactctcgt gacagtgagc 420

tccggcgggg gcggcagcgg tgggggtgga agtggtggag ggggcagcga gatcgtgatg 480

10 acccagagtc ctgccacact gtcagtgagt cctgggggagc gaatcacact ttcctgtcga 540

gcgtctcagt ccgtgaccac ggacctggcg tggtagcagc agatgccagg ccaggcgcca 600

agactcctga tctacgacgc tttacccgc gctactgggt tccccgccag attctccgga 660

15 agcgggtccg ggacggattt tacacttacc atctcttcat tgcaggctga ggattttgcc 720

gtgtactact gtcagcatta caaaacctgg cccctcactt tcgggggcgg aaaaaagtg 780

20 gaaattaaac gggcagcagc tattgagggt atgtaccac cccctacct ggacaacgag 840

aaatccaatg gcaccatcat ccacgttaag ggtaagcact tgtgtccctc accactcttc 900

cctgggccta gcaagccatt ctgggtcctg gtggtcgtgg gaggcgtgct ggcctgctat 960

25 tccctcctgg ttaccgttgc ctttatcata ttttgggtca gatccaaaag aagccgcctg 1020

ctccatagcg attacatgaa tatgactcca cgccgcctg gccccacaag gaaacactac 1080

30 cagccttacg caccacctag agatttcgct gcctatcgga gccgagtga attttctaga 1140

tcagctgatg ctccgccta tcagcaggga cagaatcaac tttaaatga gctgaacctg 1200

ggtcgcagag aagagtacga cgttttggac aaacgccggg gccgagatcc tgagatgggg 1260

gggaagccga gaaggaagaa tcctcaagaa ggcctgtaca acgagcttca aaaagacaaa 1320

5 atggctgagg cgtactctga gatcggcatg aaggcgagc ggagacgagg caagggtcac 1380

gatggcttgt atcagggcct gactacagcc acaaaggaca cctatgacgc cctccacatg 1440

caggcactgc ccccacgcta g 1461

10

<210> 80

<211> 486

<212> БИ/ЮК

15 <213> Homo sapiens

<400> 80

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

20 1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30

25

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

30

Ser Ile Ser Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro

50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

5

Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr

85 90 95

10 Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe

15 115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

20

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

145 150 155 160

25

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ile Thr

165 170 175

30 Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
 195 200 205

5 Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 210 215 220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala
 10 225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly
 245 250 255
 15

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr
 260 265 270
 20

Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His
 275 280 285

25 Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser
 290 295 300

Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
 30 305 310 315 320

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

325 330 335

Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

5 340 345 350

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

355 360 365

10

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala

370 375 380

15

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu

385 390 395 400

20 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp

405 410 415

Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu

25 420 425 430

Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile

435 440 445

30

Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr

450 455 460

Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met

465 470 475 480

5

Gln Ala Leu Pro Pro Arg

485

10

<210> 81

<211> 1434

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

15

<400> 81

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttggcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcagggtgc agttgcagga gagcggggcca ggcctgggtga agcccagcca aacactgagc 120

20

ctcacctgta ctgtgtccgg tggtagcatt tccagcgggg cgtattattg gacatggata 180

cgccaacacc ctggaaaagg gttggagtgg attggataca tccattattc tgggtccacc 240

25

tatagtaacc cttctctcaa gtctgcatt actattagtt tggatacctc taagaatcag 300

ttagtctga agctgaacag tgtaaccgcc gccgacaccg cggctacta ctgtgctagg 360

caggaggatt acgggggact gttcgattac tggggccagg ggacattggt caccgtttca 420

30

agcgggggcg gcggatctgg cggaggggga tctggaggcg gaggtctga gatcgtaatg 480

actcagagcc cagccaccct gtccgtctct cccggcgaac gcatcactct gagctgtagg 540

gcatacacagt ctgttaccac agatctggct tggatatcaac aaatgcctgg gcaggccccg 600

cgactgttga tttatgacgc ctctacgagg gccacaggat ttctgccccg gttctccggg 660

5 tctggttctg gcaccgattt taccttgaca atcagtagct tgcaggcaga agatttcgct 720

gtgtattact gccaaacatta taagacatgg cctttgacat tcggcggggg aaccaaagtg 780

10 gagatcaaac gcgccgcagc cctggacaat gagaagtcta atgggacat cattcacgtc 840

aaagggaac acctgtgccc ctctcctctg ttcccaggcc cttctaagcc cttctgggtt 900

ctcgtggtgg tgggcgggtg cctggcctgc tattcccttc ttgtgacagt ggcctttatc 960

15 attttttggg tgagatccaa aagaagccgc ctgctccata gcgattacat gaatatgact 1020

ccacgccgcc ctggccccac aaggaaacac taccagcctt acgcaccacc tagagatttc 1080

20 gctgcctatc ggagccgagt gaaattttct agatcagctg atgctccgc ctatcagcag 1140

ggacagaatc aactttacaa tgagctgaac ctgggtcgca gagaagagta cgacgttttg 1200

gacaaacgcc ggggccgaga tcctgagatg ggggggaagc cgagaaggaa gaatcctcaa 1260

25 gaaggcctgt acaacgagct tcaaaaagac aaaatggctg aggcgtactc tgagatcggc 1320

atgaaggcg agcggagacg aggcaagggt cacgatggct tgtatcaggg cctgagtaca 1380

30 gccacaaagg acacctatga cgccctccac atgcaggcac tgccccacg ctag 1434

<210> 82

<211> 477

<212> БИ/10K

<213> Homo sapiens

5 <400> 82

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

10

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30

15 Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

Ser Ile Ser Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro

20 50 55 60

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

25

Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr

85 90 95

30

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe

115 120 125

5

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

10 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ile Thr

15 165 170 175

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

20

Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

195 200 205

25

Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

210 215 220

30 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala

225 230 235 240

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly

245 250 255

5 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Asp Asn Glu Lys

260 265 270

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser

10 275 280 285

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val

290 295 300

15

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile

305 310 315 320

20

Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr

325 330 335

25 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln

340 345 350

Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys

30 355 360 365

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln

370 375 380

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu

5 385 390 395 400

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg

405 410 415

10

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met

420 425 430

15

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly

435 440 445

20 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp

450 455 460

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

25 465 470 475

<210> 83

<211> 1542

30 <212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 83

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

ccgcaggtac agttgcagga aagcggcccc ggccttgtaa aaccaagcca gactctcagt 120

5 ttgacttgca ccgtctcagg aggaagcatt tccagtgggg cttattattg gacttgatt 180

cggcagcatc ctgggaaagg gttggaatgg atcggttata ttcattatag cggtagcacc 240

tattccaatc cgtctttgaa aagcagaatc actatttcac tcgacacctc taagaaccag 300

10 ttcagtctca aactgaactc cgtgacagcg gccgacacag ctgtgtacta ctgtgcacgg 360

caagaagatt atggggggct gttcgattat tggggccaag gcacactggt gacagtatca 420

15 agcgggtggag gaggtctcgg gggcggagga agtggaggcg gggggagcga aattgtgatg 480

accagcttc cagccacgct gtcagtgtct ccgggagaac gcataaccct ctctgccgg 540

gccagtcatg ccgtcacgac cgatttggtt tggatatcaac agatgcctgg gcaggcccc 600

20 cgcttgctga tctatgacgc ctccaccaga gcaactggtt tcccccccg gttcagcgga 660

tctggaagcg gtacagattt tacacttacc atctcatcat tgcaagctga ggattttgcc 720

25 gtgtactact gccagcacta caagacctgg cctttgacgt tcggcggcgg aacaaaagtg 780

gagattaaaa gagccgctgc cctcagtaac tcaatcatgt actttagtca ctttgtgcct 840

gtgtttctgc cagcaaagcc aacaaccaca ccagaccccc gcctccaac gcctgcccc 900

30 accatgcctt cccagcctct gagcttgagg cctgaggctt gtcgccagc tgctggaggt 960

gctgtgcata cacgaggact ggatttcgcc tgcgatatct atatctgggc accacttgcc 1020

ggtacttggt gtgtgttgct gctctcactg gtcacacgc tgtactgtaa ccataggaat 1080

agatccaaaa gaagccgcct gctccatagc gattacatga atatgactcc acgccgcct 1140

5

ggccccacaa ggaaacacta ccagccttac gcaccaccta gagatttcgc tgcctatcgg 1200

agccgagtga aattttctag atcagctgat gctccgcct atcagcaggg acagaatcaa 1260

10

ctttacaatg agctgaacct gggtcgcaga gaagagtacg acgttttga caaacgccgg 1320

ggccgagatc ctgagatggg ggggaagccg agaaggaaga atcctcaaga aggcctgtac 1380

aacgagcttc aaaaagacaa aatggctgag gcgtactctg agatcgcat gaaggcgag 1440

15

cggagacgag gcaagggtca cgatggcttg taccagggcc tgagtacagc cacaaggac 1500

acctatgacg cctccacat gcaggcactg ccccccagct ag 1542

20

<210> 84

<211> 513

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

25

<400> 84

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

30

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

20 25 30

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly

35 40 45

5

Ser Ile Ser Ser Gly Ala Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro

50 55 60

10

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr

65 70 75 80

15 Tyr Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Leu Asp Thr

85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp

20 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Glu Asp Tyr Gly Gly Leu Phe

115 120 125

25

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

130 135 140

30

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Met

145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Ile Thr

165 170 175

5

Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Thr Asp Leu Ala Trp Tyr

180 185 190

10 Gln Gln Met Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser

195 200 205

Thr Arg Ala Thr Gly Phe Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

15 210 215 220

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Phe Ala

225 230 235 240

20

Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Thr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly

245 250 255

25

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Leu Ser Asn Ser Ile

260 265 270

30 Met Tyr Phe Ser His Phe Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr

275 280 285

Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
290 295 300

5 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
305 310 315 320

Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
10 325 330 335

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
340 345 350
15

Thr Leu Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
355 360 365

20 His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
370 375 380

25 Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
385 390 395 400

Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
30 405 410 415

Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu

420 425 430

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly

5 435 440 445

Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

450 455 460

10

Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu

465 470 475 480

15

Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr

485 490 495

20 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

500 505 510

Arg

25

<210> 85

<211> 993

30 <212> БИ/ЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 85

Met Pro Ala Leu Ala Arg Asp Gly Gly Gln Leu Pro Leu Leu Val Val

1 5 10 15

5

Phe Ser Ala Met Ile Phe Gly Thr Ile Thr Asn Gln Asp Leu Pro Val

20 25 30

10 Ile Lys Cys Val Leu Ile Asn His Lys Asn Asn Asp Ser Ser Val Gly

35 40 45

Lys Ser Ser Ser Tyr Pro Met Val Ser Glu Ser Pro Glu Asp Leu Gly

15 50 55 60

Cys Ala Leu Arg Pro Gln Ser Ser Gly Thr Val Tyr Glu Ala Ala Ala

65 70 75 80

20

Val Glu Val Asp Val Ser Ala Ser Ile Thr Leu Gln Val Leu Val Asp

85 90 95

25

Ala Pro Gly Asn Ile Ser Cys Leu Trp Val Phe Lys His Ser Ser Leu

100 105 110

30 Asn Cys Gln Pro His Phe Asp Leu Gln Asn Arg Gly Val Val Ser Met

115 120 125

Val Ile Leu Lys Met Thr Glu Thr Gln Ala Gly Glu Tyr Leu Leu Phe

130 135 140

5 Ile Gln Ser Glu Ala Thr Asn Tyr Thr Ile Leu Phe Thr Val Ser Ile

145 150 155 160

Arg Asn Thr Leu Leu Tyr Thr Leu Arg Arg Pro Tyr Phe Arg Lys Met

10 165 170 175

Glu Asn Gln Asp Ala Leu Val Cys Ile Ser Glu Ser Val Pro Glu Pro

180 185 190

15

Ile Val Glu Trp Val Leu Cys Asp Ser Gln Gly Glu Ser Cys Lys Glu

195 200 205

20

Glu Ser Pro Ala Val Val Lys Lys Glu Glu Lys Val Leu His Glu Leu

210 215 220

25 Phe Gly Thr Asp Ile Arg Cys Cys Ala Arg Asn Glu Leu Gly Arg Glu

225 230 235 240

Cys Thr Arg Leu Phe Thr Ile Asp Leu Asn Gln Thr Pro Gln Thr Thr

30 245 250 255

Leu Pro Gln Leu Phe Leu Lys Val Gly Glu Pro Leu Trp Ile Arg Cys

260 265 270

Lys Ala Val His Val Asn His Gly Phe Gly Leu Thr Trp Glu Leu Glu

5 275 280 285

Asn Lys Ala Leu Glu Glu Gly Asn Tyr Phe Glu Met Ser Thr Tyr Ser

290 295 300

10

Thr Asn Arg Thr Met Ile Arg Ile Leu Phe Ala Phe Val Ser Ser Val

305 310 315 320

15

Ala Arg Asn Asp Thr Gly Tyr Tyr Thr Cys Ser Ser Ser Lys His Pro

325 330 335

20 Ser Gln Ser Ala Leu Val Thr Ile Val Glu Lys Gly Phe Ile Asn Ala

340 345 350

Thr Asn Ser Ser Glu Asp Tyr Glu Ile Asp Gln Tyr Glu Glu Phe Cys

25 355 360 365

Phe Ser Val Arg Phe Lys Ala Tyr Pro Gln Ile Arg Cys Thr Trp Thr

370 375 380

30

Phe Ser Arg Lys Ser Phe Pro Cys Glu Gln Lys Gly Leu Asp Asn Gly

385 390 395 400

Tyr Ser Ile Ser Lys Phe Cys Asn His Lys His Gln Pro Gly Glu Tyr

405 410 415

5

Ile Phe His Ala Glu Asn Asp Asp Ala Gln Phe Thr Lys Met Phe Thr

420 425 430

10

Leu Asn Ile Arg Arg Lys Pro Gln Val Leu Ala Glu Ala Ser Ala Ser

435 440 445

15

Gln Ala Ser Cys Phe Ser Asp Gly Tyr Pro Leu Pro Ser Trp Thr Trp

450 455 460

Lys Lys Cys Ser Asp Lys Ser Pro Asn Cys Thr Glu Glu Ile Thr Glu

20

465 470 475 480

Gly Val Trp Asn Arg Lys Ala Asn Arg Lys Val Phe Gly Gln Trp Val

485 490 495

25

Ser Ser Ser Thr Leu Asn Met Ser Glu Ala Ile Lys Gly Phe Leu Val

500 505 510

30

Lys Cys Cys Ala Tyr Asn Ser Leu Gly Thr Ser Cys Glu Thr Ile Leu

515 520 525

Leu Asn Ser Pro Gly Pro Phe Pro Phe Ile Gln Asp Asn Ile Ser Phe

530 535 540

5

Tyr Ala Thr Ile Gly Val Cys Leu Leu Phe Ile Val Val Leu Thr Leu

545 550 555 560

10 Leu Ile Cys His Lys Tyr Lys Lys Gln Phe Arg Tyr Glu Ser Gln Leu

565 570 575

Gln Met Val Gln Val Thr Gly Ser Ser Asp Asn Glu Tyr Phe Tyr Val

15 580 585 590

Asp Phe Arg Glu Tyr Glu Tyr Asp Leu Lys Trp Glu Phe Pro Arg Glu

595 600 605

20

Asn Leu Glu Phe Gly Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Lys Val

610 615 620

25

Met Asn Ala Thr Ala Tyr Gly Ile Ser Lys Thr Gly Val Ser Ile Gln

625 630 635 640

30 Val Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Lys Ala Asp Ser Ser Glu Arg Glu

645 650 655

Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Met Met Thr Gln Leu Gly Ser His Glu

660

665

670

5 Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Leu Ser Gly Pro Ile Tyr

675

680

685

Leu Ile Phe Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu Asn Tyr Leu Arg

10

690

695

700

Ser Lys Arg Glu Lys Phe His Arg Thr Trp Thr Glu Ile Phe Lys Glu

705

710

715

720

15

His Asn Phe Ser Phe Tyr Pro Thr Phe Gln Ser His Pro Asn Ser Ser

725

730

735

20

Met Pro Gly Ser Arg Glu Val Gln Ile His Pro Asp Ser Asp Gln Ile

740

745

750

25 Ser Gly Leu His Gly Asn Ser Phe His Ser Glu Asp Glu Ile Glu Tyr

755

760

765

Glu Asn Gln Lys Arg Leu Glu Glu Glu Glu Asp Leu Asn Val Leu Thr

30

770

775

780

Phe Glu Asp Leu Leu Cys Phe Ala Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Glu

785 790 795 800

Phe Leu Glu Phe Lys Ser Cys Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn

5 805 810 815

Val Leu Val Thr His Gly Lys Val Val Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu

820 825 830

10

Ala Arg Asp Ile Met Ser Asp Ser Asn Tyr Val Val Arg Gly Asn Ala

835 840 845

15

Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Phe Glu Gly Ile

850 855 860

20 Tyr Thr Ile Lys Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu

865 870 875 880

Ile Phe Ser Leu Gly Val Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Asp Ala

25 885 890 895

Asn Phe Tyr Lys Leu Ile Gln Asn Gly Phe Lys Met Asp Gln Pro Phe

900 905 910

30

Tyr Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Ile Ile Met Gln Ser Cys Trp Ala Phe

915 920 925

Asp Ser Arg Lys Arg Pro Ser Phe Pro Asn Leu Thr Ser Phe Leu Gly

930 935 940

5

Cys Gln Leu Ala Asp Ala Glu Glu Ala Met Tyr Gln Asn Val Asp Gly

945 950 955 960

10

Arg Val Ser Glu Cys Pro His Thr Tyr Gln Asn Arg Arg Pro Phe Ser

965 970 975

15

Arg Glu Met Asp Leu Gly Leu Leu Ser Pro Gln Ala Gln Val Glu Asp

980 985 990

Ser

20

<210> 86

<211> 63

25

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 86

atggcactcc ccgtaactgc tctgctgctg ccgttgcat tgctcctgca cgccgcacgc 60

30

ccg

63

<210> 87

<211> 21

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

5

<400> 87

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

10

His Ala Ala Arg Pro

20

15

<210> 88

<211> 45

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

20

<400> 88

ggcgggtggag gctccggagg ggggggctct ggcggagggg gctcc 45

25

<210> 89

<211> 15

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

30

<400> 89

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 90

<211> 54

5 <212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 90

gggtctacat ccggctccgg gaagcccgga agtggcgaag gtagtacaaa gggg 54

10

<210> 91

<211> 18

<212> Б/ЛОК

15 <213> Homo sapiens

<400> 91

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr

20 1 5 10 15

Lys Gly

25

<210> 92

<211> 126

<212> Б/ЛОК

30 <213> Homo sapiens

<400> 92

Ala Ala Gly Cys Gly Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala

1 5 10 15

5 Ala Gly Cys Thr Cys Cys Thr Cys Thr Ala Cys Ala Thr Thr Thr Thr

20 25 30

Thr Ala Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly

10 35 40 45

Ala Gly Gly Cys Cys Cys Gly Thr Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Ala

50 55 60

15

Cys Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Gly

65 70 75 80

20

Cys Thr Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Thr Thr Thr

85 90 95

25 Cys Cys Cys Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly

100 105 110

Gly Thr Gly Gly Gly Thr Gly Cys Gly Ala Gly Cys Thr Gly

30 115 120 125

<210> 93

<211> 42

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

5 <400> 93

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

10

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20 25 30

15 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 94

20 <211> 37

<212> БИЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 94

25

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly

1 5 10 15

30 Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser

20 25 30

Thr Leu Ala Lys Ile

35

5 <210> 95

<211> 6762

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

10 <220>

<223> Plasmid Vector

<400> 95

ctgacgcgcc ctgtacgggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga 60

15

ccgctacact tgccagcgcc ctacgccccg ctcctttcgc tttcttcctt tcctttctcg 120

ccacgttcgc cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg gctcccttta gggttccgat 180

20

ttagtgcttt acggcacctc gacccccaaa aacttgatta gggtgatggt tcacgtagtg 240

ggccatcgcc ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtccacg ttctttaata 300

gtggactctt gttccaaact ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt 360

25

tataagggat tttccgatt tcggcctatt ggtaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat 420

ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgc ttacaatttg ccattcgcca ttcaggctgc 480

30

gcaactgttg ggaagggcga tcggtcgggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag 540

ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttccag tcacgacgtt 600

gtaaaacgac ggccagtga ttgtaatacg actcactata gggcgacccg gggatggcgc 660

gccagtaatc aattacgggg tcattagttc atagcccata tatggagttc cgcgttacat 720

5 aacttacggt aaatggccc cctggctgac cgcccaacga cccccgcca ttgacgtcaa 780

taatgacgta tgttcccata gtaacgcaa tagggacttt ccattgacgt caatgggtgg 840

agtatattac gtaaactgcc cacttggcag tacatcaagt gtatcatatg ccaagtacgc 900

10 cccctattga cgtcaatgac ggtaaatggc cgcctggca ttatgccag tacatgacct 960

tatgggactt tcctacttg cagtacatct acgtattagt catcgtatt accatgctga 1020

15 tgcggttttg gcagtacatc aatgggcgtg gatagcggtt tgactcacgg ggatttcaa 1080

gtctccacc cattgacgtc aatgggagtt tgtttggca ccaaaatcaa cgggactttc 1140

caaaatgtcg taacaactcc gcccattga cgcaaatggg cggtaggcgt gtacgggtgg 1200

20 aggtctatat aagcagagct ggtttagtga accggggtct ctctggttag accagatctg 1260

agcctgggag ctctctggct aactaggga cccactgctt aagcctcaat aaagcttgcc 1320

25 ttgagtctt caagtagtgt gtcccgtct gttgtgtgac tctggttaact agagatccct 1380

cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtggc gccgaacag ggacttgaaa 1440

gcgaaaggga aaccagagga gctctctga cgcaggactc ggcttgctga agcgcgcacg 1500

30 gcaagaggcg aggggcggcg actggtgagt acgcaaaaaa tttgactag cggaggctag 1560

aaggagagag atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag atcgcgatgg 1620

gaaaaaatc ggtaaggcc agggggaaag aaaaaatata aattaaaaca tatagtatgg 1680

gcaagcaggg agctagaacg attcgagtt aatcctggcc tgtagaaac atcagaaggc 1740

5 tgtagacaaa tactgggaca gctacaacca tcccttcaga caggatcaga agaacttaga 1800

tcattatata atacagtagc aaccctctat tgtgtgcatc aaaggataga gataaaagac 1860

10 accaaggaag cttagacaa gatagaggaa gagcaaaaca aaagtaagac caccgcacag 1920

caagccgccg ctgatcttca gacctggagg aggagatatg agggacaatt ggagaagtga 1980

attatataaa tataaagtag taaaaattga accattagga gtagcaccca ccaaggcaaa 2040

15 gagaagagtg gtgcagagag aaaaaagagc agtgggaata ggagctttgt tccttgggtt 2100

cttgggagca gcaggaagca ctatgggcgc agcgtcaatg acgctgacgg tacaggccag 2160

20 acaattattg tctggtatag tgcagcagca gaacaattg ctgagggcta ttgaggcgca 2220

acagcatctg ttgcaactca cagtctgggg catcaagcag ctccaggcaa gaatcctggc 2280

tgtggaaaga tacctaaagg atcaacagct cctggggatt tggggttgct ctggaaaact 2340

25 cattgcacc actgctgtgc cttggaatgc tagttggagt aataaatctc tggaacagat 2400

ttggaatcac acgacctgga tggagtggga cagagaaatt aacaattaca caagcttaat 2460

30 acactcctta attgaagaat cgcaaaacca gcaagaaaag aatgaacaag aattattgga 2520

attagataaa tgggcaagtt tgtggaattg gtttaacata acaaattggc tgtgttatat 2580

aaaattattc ataatgatag taggaggctt ggtaggttta agaatagttt ttgctgtact 2640

 ttctatagtg aatagagtta ggcagggata ttcaccatta tcgtttcaga cccacctccc 2700

 5 aaccccgagg ggacccgaca ggcccgaagg aatagaagaa gaaggtggag agagagacag 2760

 agacagatcc attcgattag tgaacggatc tcgacggtat cggttaactt ttaaaagaaa 2820

 agggggggatt ggggggtaca gtgcagggga aagaatagta gacataatag caacagacat 2880
 10
 acaaactaaa gaattacaaa aacaaattac aaaattcaaa attttatcgc gatcgcggaa 2940

 tgaaagaccc cacctgtagg tttggcaagc tagcttaagt aacgccattt tgcaaggcat 3000

 15 ggaaaataca taactgagaa tagagaagtt cagatcaagg ttaggaacag agagacagca 3060

 gaatatgggc caaacaggat atctgtggtg agcagttcct gccccggctc agggccaaga 3120

 acagatggtc cccagatgcg gtcccgccct cagcagtttc tagagaacca tcagatgttt 3180
 20
 ccagggtgcc ccaaggacct gaaaatgacc ctgtgcctta tttgaactaa ccaatcagtt 3240

 cgcttctcgc ttctgttcgc gcgcttctgc tccccgagct caataaaaga gccacaacc 3300

 25 cctcactcgg cgcgccagtc cttcgaagta gatctttgtc gatcctacca tccactcgac 3360

 acacccgccca gcggccgctg ccaagcttcc gagctctcga attaattcac ggtacccacc 3420

 atggcctagg gagactagtc gaatcgatat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga 3480
 30
 ttgactggta ttcttaacta tgttgctcct ttacgctat gtggatacgc tgctttaatg 3540

 cctttgtatc atgctattgc ttcccgatg gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc 3600

tgggtgctgt ctctttatga ggagtgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg cgtgggtgtgc 3660
 actgtgttg ctgacgcaac cccactggt tggggcattg ccaccactg tcagctcctt 3720
 5 tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgcctgcctt 3780
 gcccgtgct ggacaggggc tcggctgttg ggcaactgaca attccgtggt gttgtcgggg 3840
 10 aagctgacgt ccttttcatg gctgctcgcc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg 3900
 tccttctgct acgtcccttc ggccctcaat ccagcggacc ttccttccc cggcctgctg 3960
 ccggctctgc ggccctcttc gcgtcttcgc cttcgccctc agacgagtcg gatctccctt 4020
 15 tgggccgcct ccccgctgg ttaattaaag tacctttaag accaatgact tacaaggcag 4080
 ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa aggggggact ggaagggcga attcactccc 4140
 20 aacgaagaca agatctgctt ttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag 4200
 cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt 4260
 gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca 4320
 25 gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcaggcatgc cagacatgat aagatacatt 4380
 gatgagtttg gacaaaccac aactagaatg cagtgaataa aatgctttat ttgtgaaatt 4440
 30 tgtgatgcta ttgctttatt tgtaaccatt ataagctgca ataaacaagt taacaacaac 4500
 aattgattc attttatgtt tcaggttcag ggggaggtgt gggaggtttt ttggcgcgcc 4560

atcgtcgagg ttccctttag tgagggttaa ttgcgagctt ggcgtaatca tggcatagc 4620

tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca 4680

5 taaagtgtaa agcctggggt gcctaattgag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct 4740

cactgcccgc tttccagtgc ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcgccaac 4800

gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctctccgc ttctcgctc actgactgc 4860

10 tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt 4920

tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg 4980

15 ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg 5040

agcatcaca aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat 5100

accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc tgtccgacc ctgccgctta 5160

20 ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgt 5220

gtaggtatct cagttcgtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc 5280

25 ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aaccggtaa 5340

gacacgactt atgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg 5400

taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcctaacta cggctacact agaagaacag 5460

30 tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt 5520

gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtgggttttt tgtttgcaag cagcagatta 5580

cgcgagaaa aaaaggatct caagaagatc cttgatctt ttctacgggg tctgacgctc 5640

agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggcatgag attatcaaaa aggatcttca 5700

5 cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa 5760

cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat 5820

10 ttcgttcac catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggct 5880

taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagacc acgctcaccg gctccagatt 5940

tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgag aagtggctct gcaactttat 6000

15 ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta 6060

atagtttgcg caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg 6120

20 gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tccccatgt 6180

tgtgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt tgcagaagt aagtggccg 6240

cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgcatccg 6300

25 taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc 6360

ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtaaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa 6420

30 ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt ctcggggcg aaaactctca aggatcttac 6480

cgctgttgag atccagttcg atgtaacca ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt 6540

ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg 6600

gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa tattattgaa 6660

5 gcatttatca gggttattgt ctcattgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata 6720

aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc ac 6762

10 <210> 96

<211> 15

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

15 <400> 96

Ile Pro Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser His Asn Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

20

<210> 97

<211> 5

<212> БЛОК

<213> Homo sapiens

25

<400> 97

Asn Tyr Gly Met His

1 5

30

<210> 98

<211> 357

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 98

5 caggtgcagc tgggtcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tacactgggt gcgacaggcc 120

cctgaacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaacccta acagtgggtg cacaactat 180

10 gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg gccagggaca cgtccatcag cacagtttac 240

atggacctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaatacgc 300

15 ggtggtaact cggctcttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 20 1. Химерний антигенний рецептор, що включає антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, костимулюючий домен, активуючий домен, який являє собою сигнальний домен CD3-дзета, де антигензв'язувальна молекула містить:
 - а) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка містить ділянки, що визначають комплементарність (CDR) 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19, відповідно, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка містить CDR 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 і SEQ ID NO: 24, відповідно; або
 - б) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка містить ділянки, що визначають комплементарність (CDR) 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 35 і SEQ ID NO: 36, відповідно, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка містить CDR 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 і SEQ ID NO: 40, відповідно; або
 - в) ділянку VH із SEQ ID NO: 16 і ділянку VL із SEQ ID NO: 21; або ділянку VH із SEQ ID NO: 34 і ділянку VL із SEQ ID NO: 38; і
- 35 костимулюючий домен являє собою костимулюючий домен CD28, який містить послідовності SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 або SEQ ID NO: 4 у комбінації з SEQ ID NO: 6 або SEQ ID NO: 8.
2. Химерний антигенний рецептор за п. 1, де активуючий домен включає CD3 або CD3-дзета, де CD3-дзета включає послідовність, яка відрізняється не більше ніж на 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 або 0 амінокислотних залишків від послідовності в SEQ ID NO: 10.
3. Полінуклеотид, що кодує химерний антигенний рецептор за п. 1.
- 40 4. Вектор, що містить полінуклеотид за п. 3, де вектор являє собою ретровірусний вектор, вектор ДНК, плазмиду, вектор РНК, аденовірусний вектор, пов'язаний із аденовірусом вектор, лентівірусний вектор або будь-яку їхню комбінацію.
5. Імунна клітина, яка містить вектор за п. 4.
6. Імунна клітина за п. 5, де імунна клітина являє собою Т-клітину, лімфоцит, який інфільтрує пухлину (TIL), NK-клітину, TCR-експресуючу клітину, дендритну клітину або NK-Т-клітину.
- 45 7. Імунна клітина за п. 6, де клітина являє собою аутологічну Т-клітину.
8. Імунна клітина за п. 6, де клітина являє собою алогенну Т-клітину.

9. Імунна клітина за п. 6, де вектор уводять в клітину, яка виділена з організму пацієнта чи організму донора або яка вирощена зі зразка, узятого з організму пацієнта чи організму донора.

10. Фармацевтична композиція, яка містить імунну клітину за п. 5.

11. Виділений полінуклеотид, що кодує химерний антигенний рецептор (CAR), що містить антигензв'язувальну молекулу, яка специфічно зв'язується з FLT3, де антигензв'язувальна молекула включає:

а) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка містить ділянки, що визначають комплементарність (CDR) 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18 і SEQ ID NO: 19, відповідно, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка містить CDR 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 і SEQ ID NO: 24, відповідно; або

б) варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка містить ділянки, що визначають комплементарність (CDR) 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 35 і SEQ ID NO: 36, відповідно, і варіабельну ділянку легкого ланцюга, яка містить CDR 1, 2 і 3 із амінокислотними послідовностями SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 і SEQ ID NO: 40, відповідно; або

с) ділянку VH із SEQ ID NO: 16 і ділянку VL із SEQ ID NO: 21; або

д) ділянку VH із SEQ ID NO: 34 і ділянку VL із SEQ ID NO: 41.

12. Полінуклеотид за п. 11, що додатково включає кодування активуючого домену, де активуючий домен являє собою CD3 або CD3-дзета.

13. Полінуклеотид за п. 12, де CD3-дзета містить амінокислотну послідовність, наведену в SEQ ID NO: 10.

14. Полінуклеотид за п. 11, що додатково включає кодування коstimуючого домену, де коstimуючий домен являє собою коstimуючий домен CD28, який містить послідовності SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 або SEQ ID NO: 4 у комбінації з SEQ ID NO: 6 або SEQ ID NO: 8.

15. Спосіб лікування захворювання або порушення у суб'єкта, який цього потребує, що включає введення суб'єкту полінуклеотиду за п. 11 або введення суб'єкту химерного антигенного рецептора за п. 1, або введення суб'єкту клітини за п. 5, або введення суб'єкту фармацевтичної композиції за п. 10.

16. Спосіб за п. 15, де захворювання або порушення являє собою рак.

17. Спосіб за п. 16, де рак являє собою лейкоз, лімфому або мієлому.

18. Спосіб за п. 15, де захворювання або порушення являє собою щонайменше одне з наступного: гострий мієлоїдний лейкоз (AML), хронічний мієлогенний лейкоз (CML), хронічний мієломоноцитарний лейкоз (CMML), ювенільний мієломоноцитарний лейкоз, атиповий хронічний мієлоїдний лейкоз, гострий промієлоцитний лейкоз (APL), гострий монобластний лейкоз, гострий еритроїдний лейкоз, гострий мегакаріобластний лейкоз, мієлодиспластичний синдром (MDS), мієлопроліферативне порушення та мієлоїдне новоутворення, мієлоїдна саркома.

19. Вектор за п. 4, де вектор являє собою лентивірусний вектор і де лентивірусний вектор являє собою вектор pGAR, що має SEQ ID NO: 95.

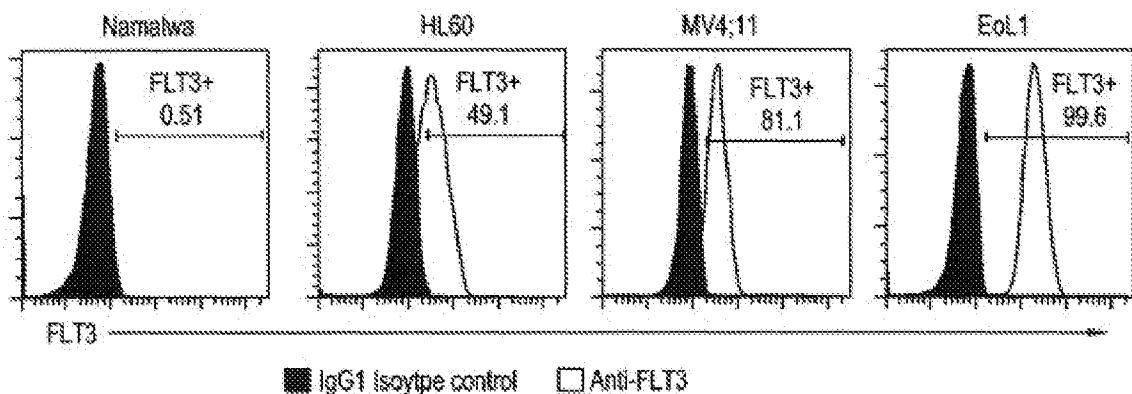
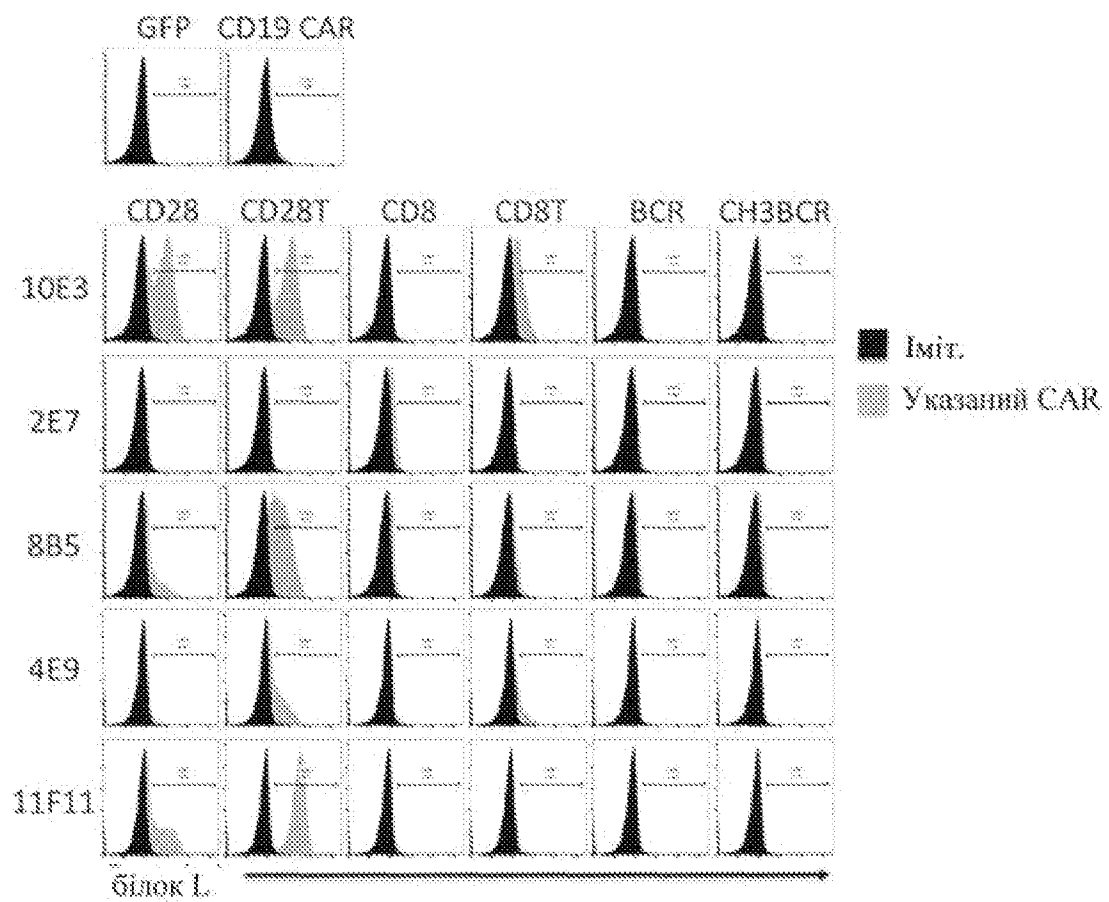


Fig. 1



Фиг. 2

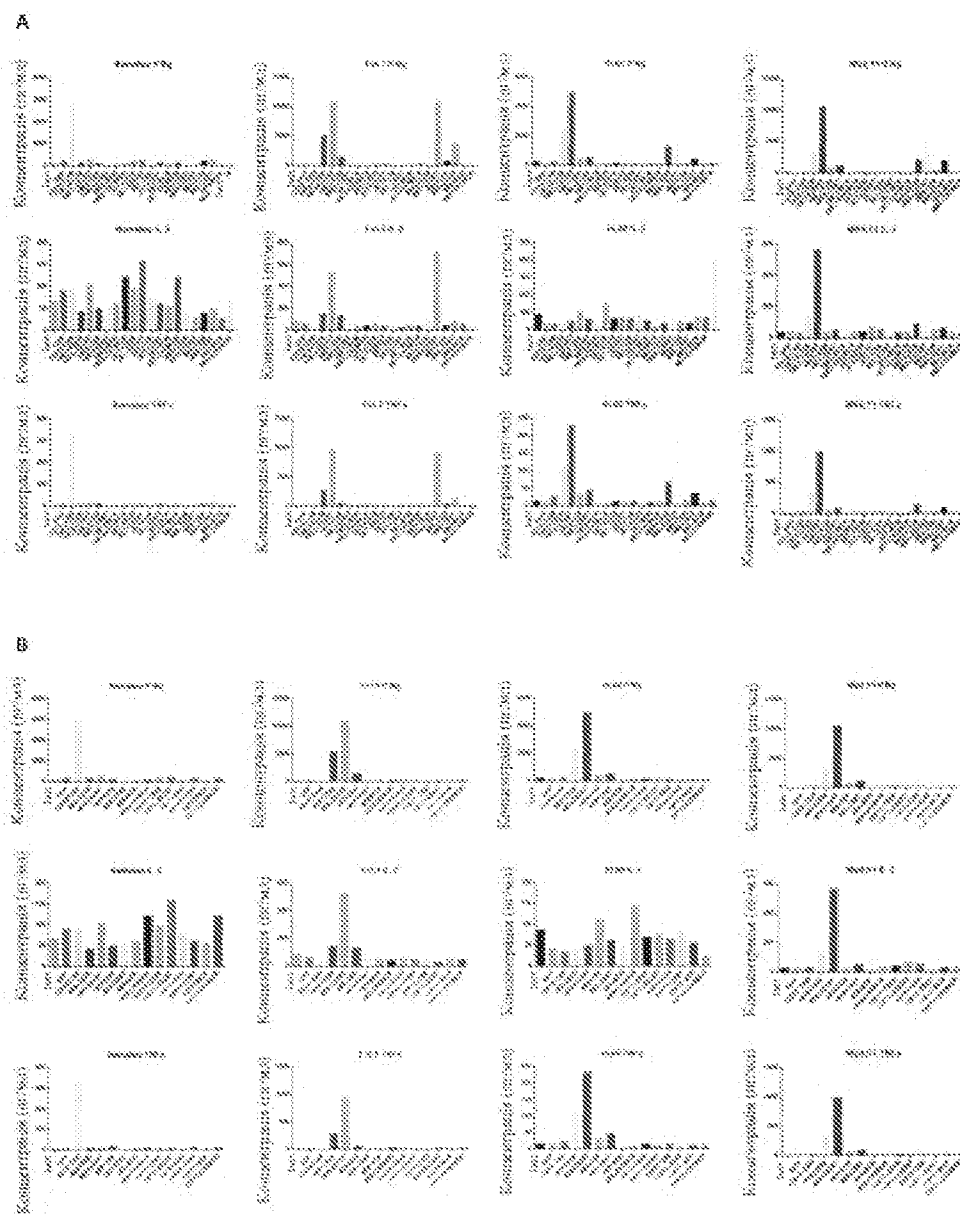
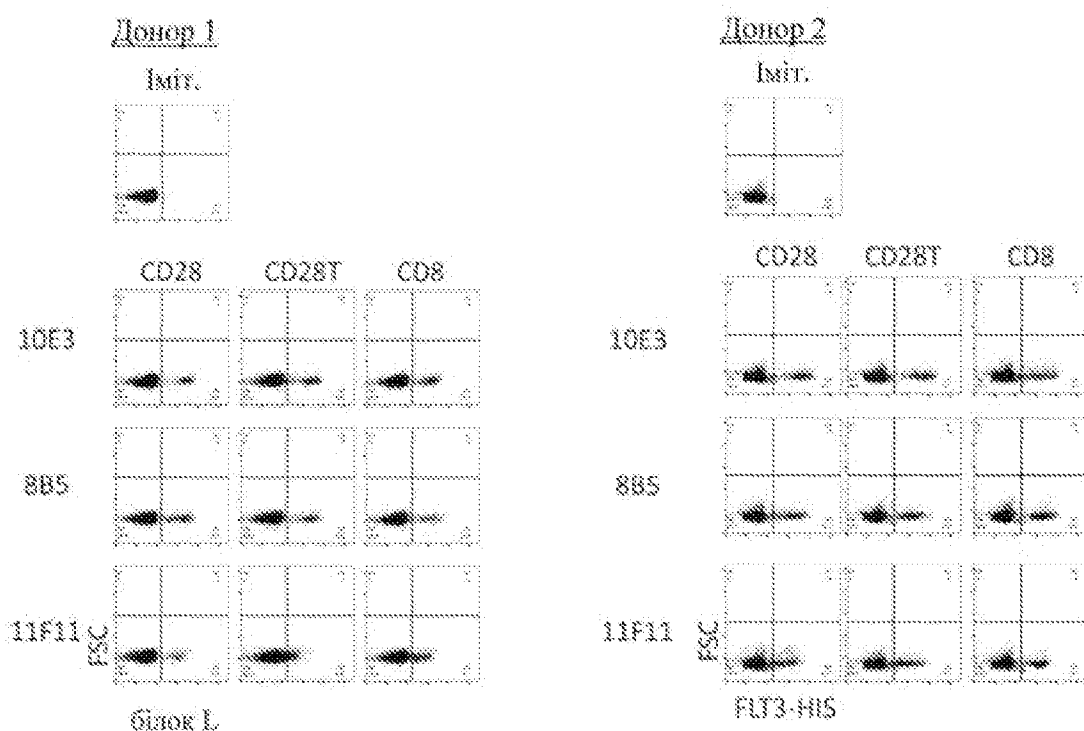
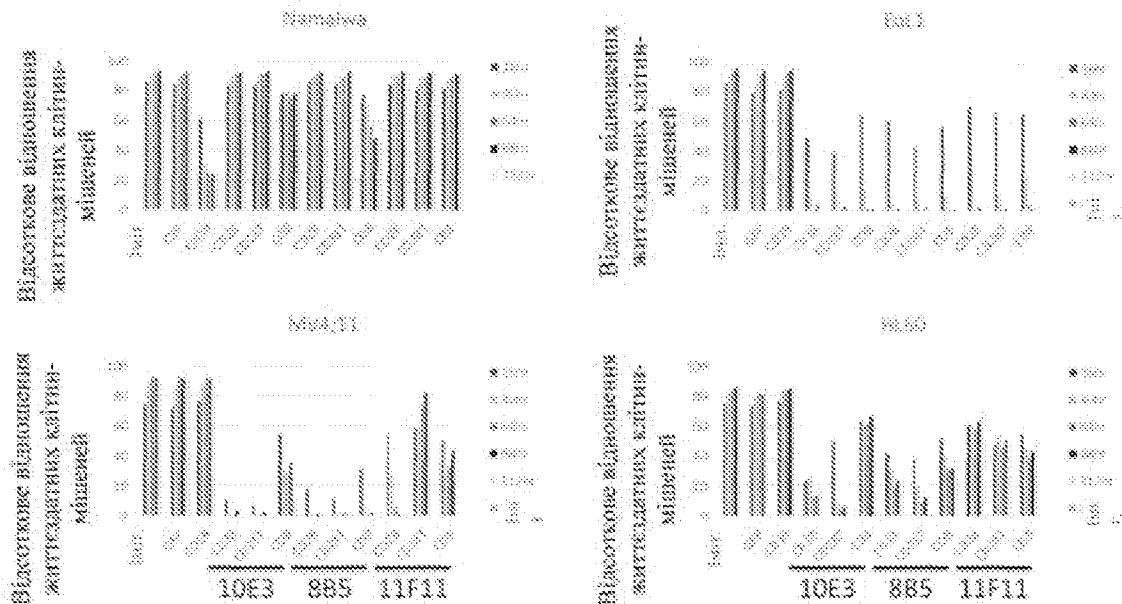


Fig. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

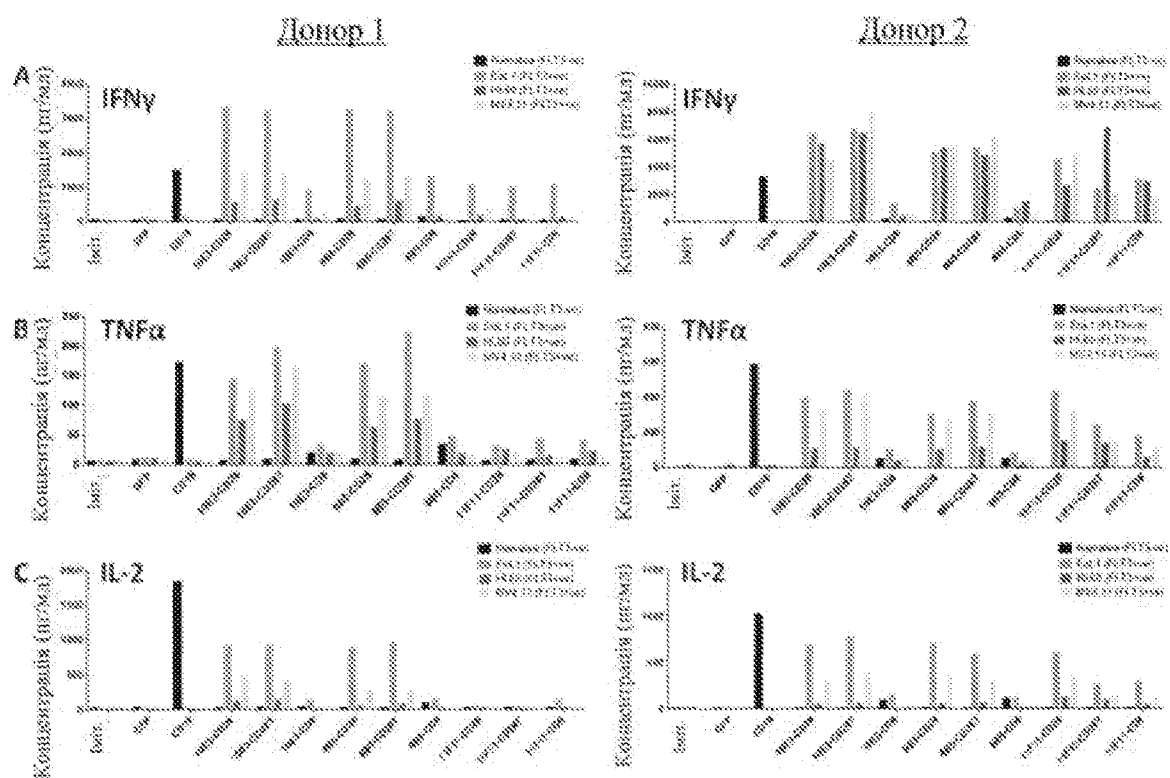
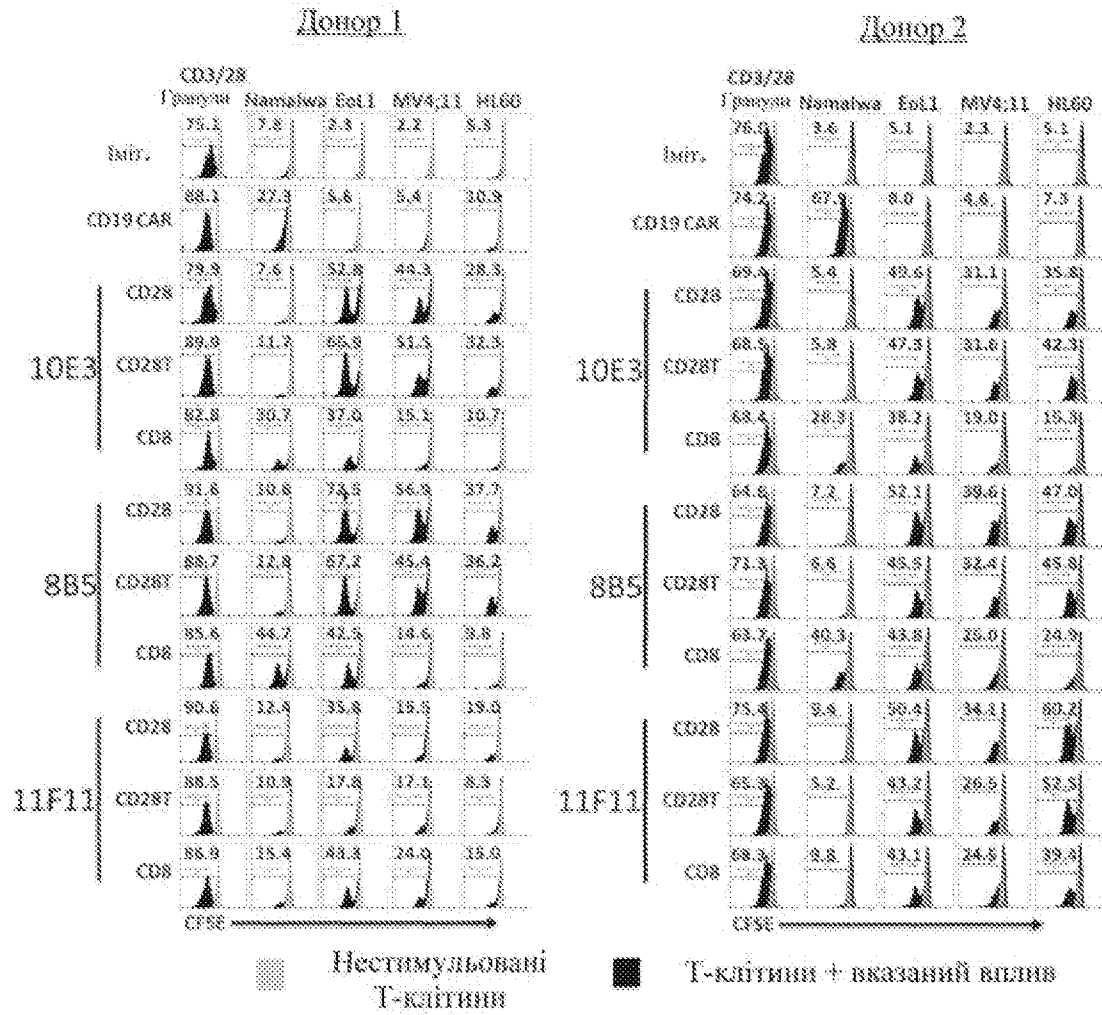
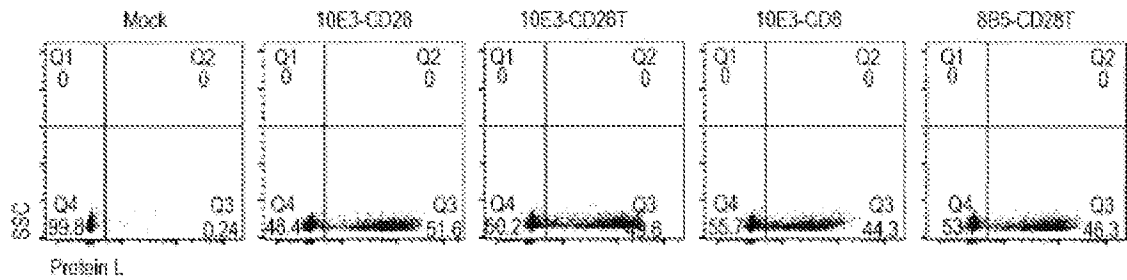


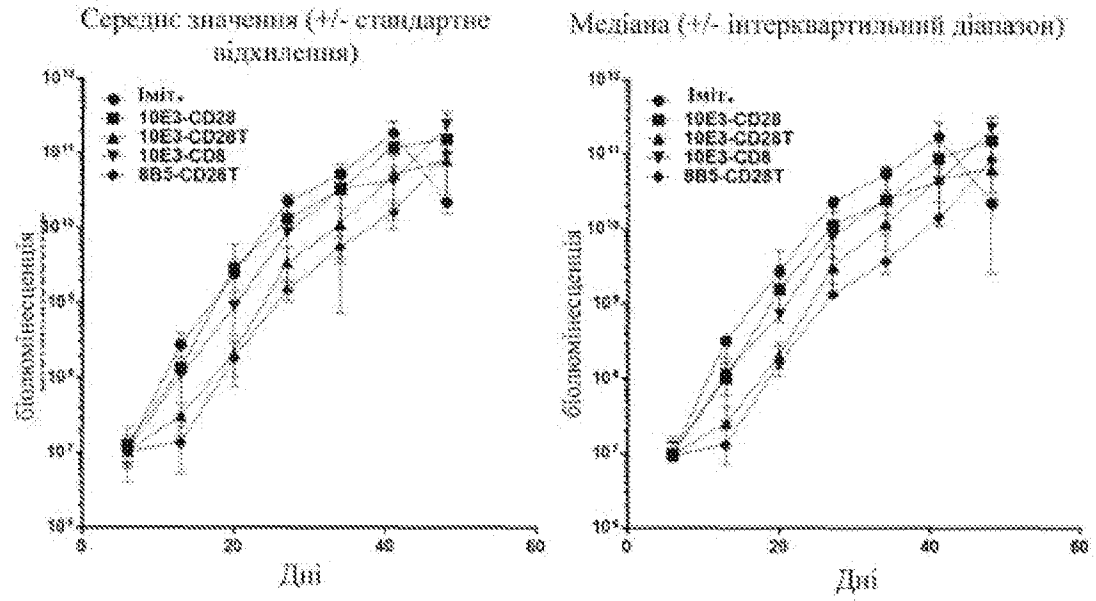
Fig. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



p-значення

День	Порівн. Іміт. та 10E3-CD28	Порівн. Іміт. та 10E3-CD28T	Порівн. Іміт. та 10E3-CD8	Порівн. Іміт. та 8B5-CD28T	Порівн. 10E3-CD28T та 8B5-CD28T
6	0.756	0.657	0.832	0.690	0.959
13	0.067	0.0004	0.014	0.0002	0.028
20	0.777	0.0022	0.022	0.0020	0.639
27	0.158	<0.0001	0.0036	<0.0001	0.042
34	0.200	0.0004	0.188	0.0001	0.142
41	0.376	0.0072	0.0034	0.0009	0.054

Фіг. 10

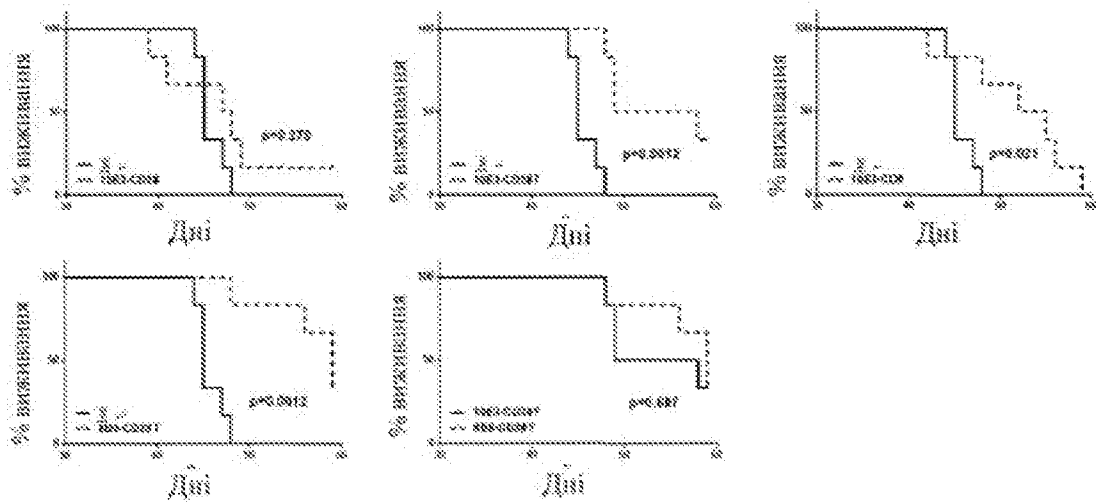


Fig. 11

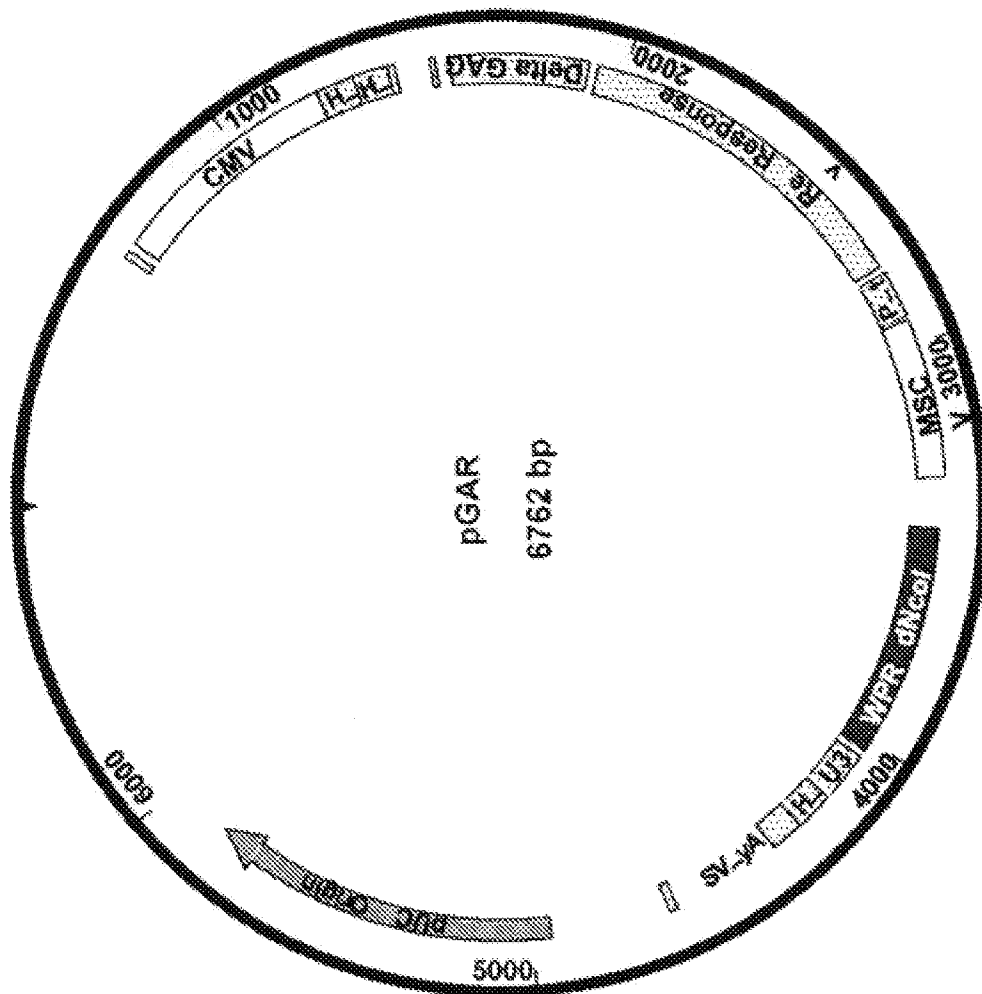


Fig. 12

