



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **125818** (13) **C2**
(51) МПК (2022.01)

C07K 19/00
C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2018 02367</p> <p>(22) Дата подання заявки: 10.08.2016</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 16.06.2022</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 201510490002.8, 201510733585.2</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 11.08.2015, 02.11.2015</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: CN, CN</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 10.08.2018, Бюл.№ 15</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 15.06.2022, Бюл.№ 24</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/CN2016/094408, 10.08.2016</p>	<p>(72) Винахідник(и): Фан Сяоху (CA), Чоу Чуан-Чу (US), Чжуанг Цючуань (CN), Ван Пінгуань (CN), Ван Лінь (CN), Ян Лей (CN), Хао Цзяін (CN)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ЛЕДЖЕНД БАЙОТЕК АЙРЛЕНД ЛІМІТЕД, One Spencer Dock, North Wall Quay, Dublin 1, Ireland (IE)</p> <p>(74) Представник: Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2013/123061 A1, 22.08.2013 FATEMEH RAHIMI JAMNANI ET AL, "T cells expressing VHH-directed oligoclonal chimeric HER2 antigen receptors: Towards tumor-directed oligoclonal T cell therapy", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA (BBA) - GENERAL SUBJECTS, (20140101), vol. 1840, no. 1, doi:10.1016/j.bbagen.2013.09.029, ISSN 0304-4165, pages 378 - 386, XP055108962 US 2014/099340 A1, 10.04.2014</p>
--	---

(54) ХИМЕРНІ РЕЦЕПТОРИ АНТИГЕНІВ НА ОСНОВІ ОДНОДОМЕННИХ АНТИТІЛ І СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується химерного рецептора антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з першим антигеном, і друге sdAb, яке специфічно зв'язується з другим антигеном, причому і перше і друге sdAb є доменами V_HH; (b) трансмембранний домен; а також (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

UA 125818 C2

Ця заявка запитує пріоритет за заявкою на патент Китаю № CN201510490002.8, що подана 11 серпня 2015 року, і заявкою на патент Китаю № CN201510733585.2, що подана 2 листопада 2015 року, зміст яких включено в даний опис шляхом посилання в повному обсязі.

ПОДАННЯ ПЕРЕЛІКУ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМУ ФАЙЛІ ASCII

5 Зміст наступного документа в текстовому файлі ASCII включено в даний опис за допомогою посилання в повному обсязі: машиночитана форма (CRF) переліку послідовностей (ім'я файлу: 761422000340SEQLISTING.txt, дата запису: 9 серпня 2016 року, розмір: 355 КБ).

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

10 Цей винахід відноситься до однодомених антитіл, химерних антигенних рецепторів, сконструйованих імунними ефекторними клітинами і способам їх застосування. Винахід також відноситься до активації і розмноження клітин для терапевтичного застосування, особливо для Т-клітинної імунотерапії на основі химерних антигенних рецепторів.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

15 В даний час з розвитком імунотерапії пухлин і медичних технологій Т-клітинна імунотерапія на основі химерних антигенних рецепторів (CAR-T) є одним з найбільш перспективних напрямків в імунотерапії пухлин. Як правило, химерний рецептор антигенів (CAR) включає позаклітинний антигензв'язуючий домен, трансмембранний домен і внутрішньоклітинний сигнальний домен. Позаклітинний антигензв'язуючий домен може містити одноланцюговий варіабельний фрагмент (scFv), націлений на ідентифікований пухлинний антиген. CAR можуть
20 бути експресовані на поверхні Т-клітин за допомогою методів генного трансфікування. При зв'язуванні з пухлинним антигеном-мішенню CAR можуть активувати Т-клітини для запуску специфічної протипухлинної відповіді антиген-залежним чином, не обмежуючись наявністю основних комплексів гістосумісності (MHC), специфічних для пухлинного антигену-мішені.

25 Однодоменні антитіла (sdAb) відрізняються від звичайних 4-ланцюгових антитіл наявністю одного варіабельного домену мономерного антитіла. Наприклад, представники сімейства верблюжих і акули продукують однодоменні антитіла, що називаються антитілами тільки з важким ланцюгом (HcAb), які за своєю природою не мають легких ланцюгів. Антигензв'язуючий фрагмент в кожному плечі антитіла тільки з важким ланцюгом у представників сімейства верблюжих має один варіабельний домен важкого ланцюга (V_HH), який може характеризуватися
30 високою афінністю до антигену без сприяння легкого ланцюга. V_HH у представників сімейства верблюжих відомий як найменший функціональний антигензв'язуючий фрагмент з молекулярною масою приблизно 15 кД.

Описи всіх публікацій, патентів, заявок на патент і опублікованих патентних заявок, згаданих у даному документі, включені в цей документ шляхом посилання в повному обсязі.

35 КОРОТКИЙ ОПИС СУТІ ВІНАХОДУ

В даному винаході запропоновані однодоменні антитіла, химерні рецептори антигенів (CAR) на основі однодомених антитіл (таких як V_HH-фрагменти), сконструйовані імунні ефекторні клітини і способи їх застосування при імунотерапії раку.

40 В одному аспекті даного винаходу пропонується анти-CD19 sdAb, що містить CDR-області SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

45 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD19 тільки з важким ланцюгом (HcAb) або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з описаних вище анти-CD19 sdAb.

В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів CD19, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD19 sdAb (таке як будь-
50 яке з описаних вище анти-CD19 sdAb); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є полівалентним (наприклад, двовалентним або тривалентним). У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним
55 (наприклад, біспецифічним).

В одному аспекті даного винаходу пропонується анти-CD20 sdAb, що містить CDR-області SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У
60 деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb містить домен V_HH, що містить

амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD20 тільки з важким ланцюгом (HCAB) або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з описаних вище анти-CD20 sdAb.

5 В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів CD20, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD20 sdAb (таке як будь-яке з описаних вище анти-CD20 sdAb); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є полівалентним (наприклад, двовалентним або тривалентним). У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним (наприклад, біспецифічним).

10 В одному аспекті даного винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить CDR-області будь-якої однієї з SEQ ID NO: 78-88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb містить одну з наведених нижче областей:

15 (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

20 (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

25 (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

30 (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

40 (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

45 (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

50 У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-BCMA тільки з важким ланцюгом (HCAB) або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з описаних вище анти-BCMA sdAb.

55 В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів BCMA, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-BCMA sdAb (таке як будь-яке з описаних вище анти-BCMA sdAb); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є полівалентним (наприклад, двовалентним або тривалентним). У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним

(наприклад, біспецифічним).

В одному аспекті даного винаходу пропонується анти-CD38 sdAb, що містить CDR-області будь-якої однієї з SEQ ID NO: 89-100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить одну з наведених нижче областей:

5 (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність
10 SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66;

15 (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

20 (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність
25 SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

30 (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

35 (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

40 (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100.

45 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-BCMA тільки з важким ланцюгом (HCAB) або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з описаних вище анти-BCMA sdAb.

В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів CD38, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD38 sdAb (таке як будь-яке з описаних вище анти-CD38 sdAb); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є полівалентним (наприклад, двовалентним або тривалентним). У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним (наприклад, біспецифічним).

50 В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів CD22, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD22 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є полівалентним (наприклад, двовалентним або тривалентним). У деяких варіантах здійснення
60 даного винаходу CAR є мультиспецифічним (наприклад, біспецифічним).

В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), що специфічно зв'язується з першим антигеном, і друге однодоменне антитіло (sdAb), що специфічно зв'язується з другим антигеном; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb розташоване на N-кінці другого sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb розташоване на C-кінці другого sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR, описаним вище, перший антиген і другий антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-BCMA sdAb, таке як будь-яке одне з BCMA sdAb, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить щонайменше дві копії (наприклад, 2, 3 і більше копій) анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-CD19 sdAb, таке як будь-яке з описаних вище анти-CD19 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-CD20 sdAb, таке як будь-яке з описаних вище анти-CD20 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-CD38 sdAb, таке як будь-яке з описаних вище анти-CD38 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить щонайменше дві копії (наприклад, 2, 3 і більше копій) анти-CD38 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-CD22 sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR, описаним вище, перший антиген відрізняється від другого антигену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-BCMA sdAb, а друге sdAb є анти-CD38 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-BCMA sdAb, а друге sdAb є анти-CD19 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-CD19 sdAb, а друге sdAb є анти-CD20 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є анти-CD19 sdAb, а друге sdAb є анти-CD22 sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з моноспецифічних CAR, описаних вище, перший антиген є таким же, як другий антиген. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є двовалентним або тривалентним. У деяких варіантах здійснення перше sdAb і друге sdAb специфічно зв'язуються з одним і тим же епітопом. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є таким же, як друге sdAb. У деяких варіантах здійснення перше sdAb і друге sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR, описаним вище, перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим антитілом.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR, описаним вище, перше sdAb і друге sdAb є безпосередньо злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і друге sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 144-151.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CAR), описаним вище, трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен є похідним від CD8 або CD28. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132 або SEQ ID NO: 133.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CAR), описаним вище, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такий як T-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 140 або SEQ ID NO: 141.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CAR), описаним вище, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення

даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен містить цитоплазматичний домен CD28 і/або цитоплазматичний домен CD137. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 136 і/або SEQ ID NO: 137.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу згідно з будь-яким з CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CAR), описаним вище, CAR додатково містить шарнірний домен, розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінців трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен є похідним від CD8 α . У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 130.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR додатково містить сигнальний пептид, розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8 α , ГМКСФ-рецептора α і важкого ланцюга IgG1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид є похідним від CD8 α . У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 127.

В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів будь-якого з перерахованих в Таблицях 4, 5 і 6 елемента. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 і 265-270.

В одному аспекті даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 76-100, 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 і 265-270.

В одному аспекті даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує будь-який з CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CAR), описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність нуклеїнової кислоти вибирають з групи, що складається з SEQ ID NO: 175-197, 202-205, 217-227, 250-251, 261-264 і 271-276. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота додатково містить послідовність другої нуклеїнової кислоти, що кодує другий CAR, при цьому послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує CAR, функціонально зв'язана з послідовністю другої нуклеїнової кислоти за допомогою послідовності третьої нуклеїнової кислоти, що кодує саморозщеплюваний пептид, такий як пептид T2A, P2A або F2A. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність третьої нуклеїнової кислоти є SEQ ID NO: 256В деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є молекулою ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є молекулою РНК.

В одному аспекті даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з виділених нуклеїнових кислот, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є лентівірусним вектором.

В одному аспекті даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина, яка містить будь-який з CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CAR), описаних вище, або будь-яку з виділених нуклеїнових кислот, описаних вище, або будь-який з описаних вище векторів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина містить або експресує дві або більшу кількість CAR (включаючи CD19 CAR, CD20 CAR, BCMA CAR, CD38 CAR і CD22 CARs), описаних вище, при цьому два або більша кількість CAR специфічно зв'язуються з різними антигенами. У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунна ефекторна клітина є Т-клітиною.

В одному аспекті даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить будь-яку з сконструйованих імунних ефекторних клітин, описаних вище, і фармацевтично прийнятний носій. Додатково пропонується спосіб лікування раку у індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості будь-якої з фармацевтичних композицій, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна

ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозою. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є множинною мієломою, гострим лімфобластним лейкозом або хронічним лімфоцитарним лейкозом. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком, таким як гліобластома.

5 В одному аспекті даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить будь-яке з анти-CD19 sdAb, анти-CD20 sdAb, анти-CD38 sdAb або анти-BCMA sdAb, описаних вище, і фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування захворювання (такого як рак) у індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції.

10 Також пропонуються способи застосування, набори і готові вироби, що містять будь-які однодоменні антитіла, CAR, сконструйовані імунні ефекторні клітини, виділені нуклеїнові кислоти або вектори, що описані вище.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

15 На Фіг. 1A наведено порівняння структури CAR на основі V_HH і звичайного CAR на основі scFv. Схематична структура зліва демонструє типовий моноспецифічний моновалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить домен V_HH. Схематична структура справа демонструє типовий моноспецифічний моновалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить домен scFv.

20 На Фіг. 1B наведено порівняння структури CAR на основі V_HH, що має дві антигензв'язуючі ділянки, і звичайного CAR на основі scFv, що має дві антигензв'язуючі ділянки. Схематична структура зліва демонструє типовий CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два домени V_HH. Два домени V_HH можуть бути однаковими або різними. Схематична структура справа демонструє типовий CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить домен scFv. Два домени scFv можуть бути однаковими або різними.

25 На Фіг. 1C проілюстровані схематичні структури типових двовалентних і біспецифічних CAR на основі V_HH. Схематична структура на верхній лівій панелі ілюструє типовий моноспецифічний двовалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два ідентичних домени V_HH, кожен з яких специфічно зв'язується з епітопом 1 антигену А. схематична структура на верхній правій панелі ілюструє типовий моноспецифічний двовалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перший домен V_HH, що специфічно зв'язується з епітопом 1 антигену А, і другий домен V_HH, що специфічно зв'язується з епітопом 2 антигену А. Епітоп 1 і епітоп 2 антигену А можуть відрізнятися за своєю структурою і/або послідовностями. Схематична структура в нижній лівій панелі ілюструє типовий біспецифічний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перший домен V_HH, який специфічно зв'язується з антигеном А, і другий домен V_HH, який специфічно зв'язується з антигеном В. Антиген А і антиген В є різними антигенами.

30 На Фіг. 1D проілюстровані схематичні структури типових CAR на основі V_HH, що мають три або більшу кількість доменив V_HH. CAR можуть мати безліч доменив V_HH, злитих один з одним безпосередньо або за допомогою пептидних лінкерів. Домени V_HH можуть бути однаковими або різними. Різні домени V_HH можуть специфічно зв'язуватися з різними епітопами на одному і тому ж антигені або на різних антигени.

На Фіг. 1E проілюстровані типові сконструйовані імунні ефекторні клітини, що спів-експресують два різних CAR на основі V_HH. Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини на лівій панелі спів-експресують два різних моноспецифічних одновалентних CAR.

45 Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини на середній панелі спів-експресують моноспецифічний, моновалентний CAR і біспецифічний або двовалентний CAR. Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини на правій панелі спів-експресують два різних біспецифічних або двовалентних CAR. CAR можуть розпізнавати різні антигени.

50 На Фіг. 2A наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові моноспецифічні CAR, що містять різні антитіла анти-BCMA (тобто, анти-CD269) або анти-CD38 однодоменні антитіла проти клітинної лінії множинної мієломи RPMI8226.Luc.

На Фіг. 2B наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові моноспецифічні CAR, що містять різні антитіла анти-BCMA (тобто, анти-CD269) або анти-CD38 однодоменні антитіла проти клітинної лінії гліобластоми U87MG.Luc.

55 На Фіг. 3A наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові біспецифічні CAR проти клітинної лінії множинної мієломи RPMI8226.Luc.

На Фіг. 3B наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові біспецифічні CAR проти клітинної лінії множинної мієломи RPMI8226.Luc.

60 На Фіг. 4 наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові біспецифічні CAR проти клітинної лінії множинної мієломи RPMI8226.Luc.

На Фіг. 5 проілюстровані конструкції типового біспецифічного CAR, націленого на CD19 і CD20, типового моноспецифічного CAR, націленого на CD19, і типового моноспецифічного CAR, націленого на CD20.

5 На Фіг. 6 наведені результати аналізу цитотоксичності різних Т-клітин *in vitro*. На верхній лівій панелі наведені результати нетрансдукованих контрольних Т-клітин. На верхній правій панелі наведені результати Т-клітин, що експресують типовий CD19 CAR. На нижній лівій панелі наведені результати Т-клітин, що експресують типовий CD20 CAR. На нижній правій панелі наведені результати Т-клітин, що експресують типовий біспецифічний CD19 × CD20 CAR.

10 На Фіг. 7 наведені результати протипухлинного аналізу Т-клітин *in vivo*, що експресують типовий біспецифічний CAR, націлений на CD19 і CD20.

На Фіг. 8A наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові моноспецифічні двовалентні CAR проти клітинної лінії множинної мієломи RPMI8226.Luc. Кожен CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два різних анти-BCMA (тобто, анти-CD269) sdAb.

15 На Фіг. 8B наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин *in vitro*, що експресують типові моноспецифічні двовалентні CAR проти клітинної лінії гліобластоми U87MG.Luc. Кожен CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два різних анти-BCMA (тобто, анти-CD269) sdAb.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

20 У даному винаході пропонуються моноспецифічним, мультиспецифічні (такі як біспецифічні) і полівалентні (такі як двовалентні або тривалентні) химерні рецептори антигенів, що містять однодоменні антитіла (sdAb) на основі позаклітинних антигензв'язуючих доменів. На відміну від антигензв'язуючих фрагментів, похідних від звичайних чотириланцюгових антитіл, sdAb містять тільки один варіабельний домен, такий як V_HH. Таким чином, sdAbs мають набагато менший
25 розмір, ніж антигензв'язуючі фрагменти, такі як scFvs, які в даний час застосовуються як позаклітинні антигензв'язуючі домени в CAR. Крім того, оскільки немає необхідності в спарюванні важкого ланцюга і легкого ланцюга при фолдингу sdAb, порушення фолдингу позаклітинного антигензв'язуючого домену можна зменшити в сконструйованих імунних клітинах, що експресують CAR на основі sdAb. CAR з позаклітинними антигензв'язуючими
30 домонами, що містять множинні копії sdAb або множинні sdAb, націлені на різні епітопи або антигени, можна успішно сконструювати і одержати рекомбінантним шляхом, тим самим забезпечуючи ефективну платформу для підготовки і скринінгу полівалентних і мультиспецифічних CAR. Крім того, невеликий розмір sdAb може забезпечити доступ CAR до прихованих антигенів-мішеней і епітопів в пухлинних тканинах.

35 Мультиспецифічні і полівалентні CAR можуть характеризуватися більш високою ефективністю в порівнянні з моноспецифічними одновалентними CAR при імунотерапії раку. Ракові клітини є генетично нестабільними, що дозволяє їм уникати націленого на них впливу шляхом мутації або втрати генів, що кодують антигени-мішені. В результаті націлювання на два або більшу кількість різних епітопів або антигенів на ракових клітинах полівалентні або
40 мультиспецифічні CAR можуть зробити більш важким повноцінне ухилення ракових клітин від націленого на них впливу за допомогою сконструйованих імунних ефекторних клітин (таких як Т-клітини), що експресують CAR. Через їх невеликий розмір, тандемно-злиті однодоменні антитіла, які застосовуються як позаклітинні антигензв'язуючі домени в полівалентних або мультиспецифічних CAR за даним винаходом, можуть зберігати свою індивідуальну структурну
45 цілісність і зв'язування з антигенами-мішенями, тим самим забезпечуючи ефективне націлювання CAR на кожен епітоп або антиген. Сконструйовані імунні ефекторні клітини, які експресують полівалентні або мультиспецифічні CAR або такі, що спів-експресують два або більшу кількість химерних антигенних рецепторів, які націлені на різні пухлинні антигени, можуть долати механізми ухилення пухлини від імунної відповіді, які зумовлені порушеннями в білково-антигенному процесингу і презентації.

Відповідно, в одному аспекті даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке
55 специфічно зв'язується з першим антигеном, і друге однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з другим антигеном; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший антиген відрізняється від другого антигену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген є BCMA, а другий антиген є CD38. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген є CD19, а другий антиген є BCMA. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген є
60 CD19, а другий антиген є CD20. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген

є CD19, а другий антиген є CD22.

В іншому аспекті пропонується полівалентний химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множинну однодоменних антитіл (sdAb), що специфічно зв'язуються з антигеном; (b) трансмембранний домен; і (с) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

В іншому аспекті пропонується полівалентний химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з першим епітопом антигену, і друге однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з другим епітопом антигену; (b) трансмембранний домен; і (с) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу.

Крім того, пропонуються нові анти-CD19, анти-CD20, анти-BCMA і анти-CD38 однодоменні антитіла і химерні рецептори антигенів, що містять будь-яке з sdAb.

Також в даному документі описані сконструйовані імунні ефektorні клітини (такі як Т-клітини), що містять CAR, фармацевтичні композиції, набори, готові вироби та способи лікування раку із застосуванням сконструйованих імунних ефektorних клітин або однодоменних антитіл.

I. Визначення

Якщо спеціально не вказано інше, при практичній реалізації даного винаходу будуть застосовуватися загальноприйняті методи вірусології, імунології, мікробіології, молекулярної біології і технології рекомбінантних ДНК, відомі фахівцям в даній галузі техніки, багато з яких описані нижче в ілюстративних цілях. Такі технології детально описані в літературі. Див., наприклад, *Current Protocols in Molecular Biology or Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, New York, N. Y. (2009); Ausubel et al, *Short Protocols in Molecular Biology*, 3rd ed., Wiley & Sons, 1995; Sambrook and Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd Edition)*, 2001; Maniatis et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982)*; *DNA Cloning: A Practical Approach*, vol. I & II (D. Glover, ed.); *Oligonucleotide Synthesis* (N. Gait, ed., 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. Hames & S. Higgins, eds., 1985); *Transcription and Translation* (B. Hames & S. Higgins, eds., 1984); *Animal Cell Culture* (R. Freshney, ed., 1986); Perbal, *A Practical Guide to Molecular Cloning (1984)* та інші подібні посилання.

Термін "антитіло" включає моноклональні антитіла (включаючи повнорозмірні 4-ланцюгові антитіла або повнорозмірні антитіла тільки з важким ланцюгом, які мають Fc-область імуноглобуліну), композиції антитіл з поліепітопічною специфічністю, мультиспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла, діатіла і одноланцюгові молекули), а також фрагменти антитіл (наприклад, Fab, F (ab')₂ і Fv). В даному контексті термін "імуноглобулін" (Ig) застосовується як взаємозамінний з терміном "антитіло". Антитіла, що розглядаються в даному документі, включають в себе однодоменні антитіла, такі як антитіла тільки з важким ланцюгом.

Основною одиницею 4-ланцюгового антитіла є гетеротетрамерний глікопротеїн, що складається з двох ідентичних легких (L) ланцюгів і двох ідентичних важких (H) ланцюгів. Антитіло IgM складається з 5 основних гетеротетрамерних одиниць разом з додатковим поліпептидом, що називається J-ланцюгом, і містить 10 антигензв'язуючих ділянок, тоді як антитіла IgA складаються з 2-5 основних 4-ланцюгових одиниць, які можуть полімерізуватися з утворенням полівалентних комплексів в комбінації з J-ланцюгом. У разі IgG 4-ланцюгова одиниця зазвичай має масу приблизно 150000 дальтон. Кожний L-ланцюг пов'язаний з H-ланцюгом за допомогою одного ковалентного дисульфідного зв'язку, тоді як два H-ланцюга пов'язані один з одним за допомогою одного або більшої кількості дисульфідних зв'язків в залежності від ізотипу H-ланцюга. Кожний H- і L-ланцюг також має розташовані з рівними інтервалами міжланцюгові дисульфідні містки. На N-кінці кожен H-ланцюг має варіабельний домен (V_H), за яким слідує три константних домени (C_H) для кожного α- і γ-ланцюга і чотири C_H-домени для μ- і ε-ізотипів. На N-кінці кожен L-ланцюг має варіабельний домен (V_L), за яким слідує константний домен на його іншому кінці. V_L вирівнюється з V_H, а C_L вирівнюється з першим константним доменом важкого ланцюга (C_{H1}). Передбачається, що конкретні амінокислотні залишки утворюють область взаємодії між варіабельними доменами легкого і важкого ланцюга. Парування V_H і V_L разом утворює антигензв'язуючу ділянку. Стосовно структури і властивостей різних класів антитіл, див., наприклад, *Basic and Clinical Immunology*, 8th Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, Conn., 1994, стор. 71 і глава 6. L-ланцюг, одержаний від будь-якого виду хребетних можна віднести до одного з двох чітко розрізняваних типів, що називаються каппа і лямбда, на основі амінокислотних послідовностей їх константних доменів. В залежності від амінокислотної послідовності константного домену своїх важких ланцюгів (C_H), імуноглобуліни можна віднести

до різних класів або ізотипів. Існує п'ять класів імуноглобулінів: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, що мають важкі ланцюги, позначені відповідно α , δ , ϵ , γ і μ . Класи γ і α додатково поділяються на підкласи на основі відносно незначних відмінностей в послідовності C_H і функціонування, наприклад, організм людини експресує наступні підкласи: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 і IgA2.

5 Термін "антитіло тільки з важким ланцюгом" або "HCAb" відноситься до функціонального антитіла, яке містить важкі ланцюги, але не містить легких ланцюгів, які зазвичай зустрічаються в 4-ланцюгових антитілах. Відомо, що тварини сімейства верблюжих (наприклад, верблюди, ламы або альпаки) продукують HCAb.

10 Термін "однодоменне антитіло" або "sdAb" відноситься до поліпептиду, що зв'язує один антиген і має три області, які визначають комплементарність (CDR). Антитіло sdAb саме здатне зв'язуватися з антигеном без спарювання з відповідним CDR-вмісним поліпептидом. У деяких випадках однодоменні антитіла сконструйовані з верблюжих антитіл HCAb, а їх варіабельні домени важкого ланцюга згадуються в даному документі як "V_HH". Деякі V_HH також можуть бути відомі як нанотіла. Верблюже sdAb є одним з найменших відомих антигензв'язуючих фрагментів

15 антитіл (див., наприклад, Hamers-Casterman et al., Nature 363: 446-8 (1993); Greenberg et al., Nature 374: 168-73 (1995); Hassanzadeh-Ghassabeh et al., Nanomedicine (Lond), 8: 1013-26 (2013)). Основний V_HH має наступну структуру від N-кінця до C-кінця: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, в якому FR1-FR4 відносяться до каркасних областей з 1 по 4, і в якому CDR1-CDR3 відносяться до областей 1-3, що визначають компліментарність.

20 "Виділений" антитілом є таке антитіло, яке було ідентифіковано, виділено і/або вилучено з компонента його продукуючого середовища (наприклад, природне або рекомбінантне). Переважно, виділений поліпептид не пов'язаний з будь-якими іншими компонентами з його продукуючого середовища. Контамінуючі компоненти його продукуючого середовища, такі як рекомбінантні трансфіковані клітини, є речовинами, які, як правило, перешкоджають

25 дослідженню, діагностичному або терапевтичному застосуванню антитіл і можуть включати в себе ферменти, гормони і інші білкові або небілкові розчинені речовини. У переважних варіантах здійснення даного винаходу поліпептид буде очищений: (1) більш ніж на 95 % мас. антитіла, наприклад, за методикою Лоурі, а в деяких варіантах здійснення – більш ніж на 99 % мас.; (1) до ступеня, що є достатнім для одержання щонайменше 15 залишків N-кінцевої або

30 внутрішньої амінокислотної послідовності за допомогою секвенатора з обертовим стаканом, або (3) до одержання гомогенності за допомогою електрофорезу в ДСН-ПААГ у відновлювальних або невідновлювальних умовах із застосуванням, наприклад, барвника Кумасі синього або срібного. Виділене антитіло включає антитіло *in situ* в рекомбінантних клітинах, оскільки щонайменше один з компонентів природного середовища антитіла відсутній. У той же час, виділений поліпептид або антитіло, як правило, одержують із застосуванням щонайменше

35 одного етапу очищення.

Термін "варіабельна область" або "варіабельний домен" антитіла відноситься до N-кінцевих доменів важкого або легкого ланцюга антитіла. Варіабельні домени важкого ланцюга і легкого ланцюга можуть бути позначені як "V_H" і "V_L", відповідно. Як правило, ці домени є найбільш

40 варіабельними частинами антитіла (відносно інших антитіл того ж класу) і містять антигензв'язуючі ділянки. Антитіла тільки з важким ланцюгом, одержані від представників видів верблюжих, мають одну варіабельну область важкого ланцюга, яка позначається як "V_HH". Таким чином, V_HH є особливим типом V_H.

Термін "варіабельний" відноситься до того факту, що серед антитіл деякі сегменти варіабельних доменів сильно розрізняються за послідовностями. V-домен опосередковує

45 антигенне зв'язування і визначає специфічність конкретного антитіла до його конкретного антигену. У той же час варіабельність не є рівномірно розподіленою по всьому діапазону варіабельних доменів. Навпаки, варіабельність зосереджена в трьох сегментах варіабельних доменів як легкого, так і важкого ланцюга, що називаються гіперваріабельними областями (HVR). Більш консервативні фрагменти варіабельних доменів називаються каркасними

50 областями (FR). Кожен варіабельний домен природних легких і важких ланцюгів містить чотири FR-області, що переважно приймають конфігурацію бета-листа і з'єднані трьома HVR, що утворюють петлі, які з'єднують структури бета-типу, а в деяких випадках – є їх частиною. HVR кожного ланцюга об'єднані один з одним в безпосередній близькості за допомогою FR-

55 областей і, разом з HVR іншого ланцюга, беруть участь в утворенні антигензв'язуючої ділянки антитіла (див. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)). Константні домени не беруть безпосередньої участі у зв'язуванні антитіла з антигеном, однак виявляють різні ефекторні функції, наприклад, участь антитіла в антитілозалежній клітинній токсичності.

60 У даному контексті термін "моноклональне антитіло" відноситься до антитіла, одержаного з

популяції по суті однорідних антитіл, тобто, з популяції, окремі антитіла в якій є ідентичними, за винятком можливих природних мутацій і/або посттрансляційних модифікацій (наприклад, ізомеризації, амідування), які можуть бути присутніми в незначних кількостях. Моноклональні антитіла є високоспецифічними, спрямованими на одну антигенну ділянку. На відміну від

5 препаратів поліклональних антитіл, які зазвичай включають в себе різні антитіла, спрямовані проти різних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло спрямовано на одну детермінанту антигену. Крім своєї специфічності, перевага препаратів моноклональних антитіл полягає в тому, що вони синтезовані гібридомною культурою або рекомбінантно і не контаміновані іншими імуноглобулінами. Модифікатор "моноклональне" вказує на властивість

10 антитіла, як на одержане по суті з однорідної популяції антитіл, при цьому значення цього модифікатора не слід інтерпретувати як необхідність продукування антитіла за допомогою будь-якого конкретного способу. Наприклад, моноклональні антитіла, які будуть застосовуватися згідно із даним винаходом, можна одержати за допомогою різних способів, включаючи гібридомну технологію (наприклад, Kohler і Milstein., *Nature*, 256: 495-97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma*, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, NY, 1981)), технологію рекомбінантних ДНК (див., наприклад, в патенті США № 4816567), технологію фагових дисплеїв (див., наприклад, Clackson et al., *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338 (2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340 (5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34): 12467-12472 (2004); і Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284 (1-2): (2004) і технологію

20 продукування антитіл людини або аналогів антитіл людини в організмах тварин, які частково або повністю містять локуси або гени імуноглобулінів людини, які кодують послідовності імуноглобулінів людини (див., наприклад, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7: 33 (1993); в патенті США №№ 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; і 5661016; Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); і Lonberg і Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995).

Термін "голе антитіло" відноситься до антитіла, яка не кон'юговане з цитотоксичним фрагментом або радіоактивною міткою.

Терміни "повнорозмірне антитіло", "інтактне антитіло" або "ціле антитіло" в даному документі є взаємозамінними і відносяться до антитіла по суті в його інтактній формі, на відміну

35 від фрагмента антитіла. Зокрема, повнорозмірні 4-ланцюгові антитіла включають в себе такі антитіла, які мають важкий і легкий ланцюг, включаючи Fc-область. Повнорозмірні антитіла тільки з важким ланцюгом включають в себе важкий ланцюг (такий як V_HH) і Fc-область. Константні домени можуть бути константними доменами нативних послідовностей (наприклад, константні домени нативних послідовностей людини) або їх варіантами амінокислотних

40 послідовностей. У деяких випадках інтактне антитіло може мати одну або декілька ефекторних функцій.

"Фрагмент антитіла" містить частину інтактного антитіла, переважно антигензв'язуючу і/або варіабельний ділянку інтактного антитіла. Приклади фрагментів антитіл включають в себе Fab-, Fab'-, F(ab')₂ і Fv-фрагменти; діатіла; лінійні антитіла (див. в патенті США № 5641870, Приклад 2; Zapata et al., *Protein Eng.* 8 (10): 1057-1062 [1995]); молекули одноланцюгових антитіл; однодоменні антитіла (такі як V_HH) і мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл. При розщепленні антитіл папаїном утворюються два ідентичних антигензв'язуючих фрагмента, що називаються "Fab»-фрагменти, і залишковий "Fc»-фрагмент, назва якого відображає його здатність легко кристалізуватися. Fab-фрагмент складається з цілого L-ланцюга разом з

50 доменом варіабельної області H-ланцюга (V_H), і першим константним доменом з одного важкого ланцюга (C_H1). Кожен Fab-фрагмент є моновалентним відносно зв'язування антигену, тобто, він має одну антигензв'язуючу ділянку. Обробка антитіла пепсином дозволяє одержати один великий F(ab')₂-фрагмент, який умовно відповідає двом дисульфіднозв'язаним Fab-фрагментам, які мають різну антигензв'язуючу активність і як і раніше здатні до перехресного зв'язування антигену. Fab'-фрагменти відрізняються від Fab-фрагментів тим, що мають декілька додаткових залишків на карбоксильному кінці домену C_H1, що включає в себе один або більшу кількість цистеїну з шарнірної ділянки антитіла. В даному описі Fab'-SH є позначенням Fab', в якому цистеїновий(і) залишок(и) константних доменів несе вільну тиольну групу. F(ab')₂-фрагменти антитіла первинно одержували у вигляді пар Fab'-фрагментів, між якими знаходяться шарнірні

60 залишки цистеїну. Відомі також інші варіанти хімічного зв'язування фрагментів антитіл.

Fc-фрагмент містить карбокситермінальні частини обох H-ланцюгів, що утримуються разом дисульфідними зв'язками. Ефекторні функції антитіл визначаються за послідовностями в Fc-області; ця область також є областю, яка розпізнається Fc-рецепторами (FcR), виявленими на визначених типах клітин.

5 "Fv" є мінімальним фрагментом антитіла, що містить повну антигенрозпізнавальну і антигензв'язуючу ділянку. Цей фрагмент складається з димеру одного домену варіабельної області важкого ланцюга і одного домену варіабельної області легкого ланцюга, що сполучені жорстким нековалентним зв'язком. В результаті фолдингу цих двох доменів виділяється шість гіперваріабельних петель (по 3 петлі з кожного H- і L-ланцюга), які забезпечують наявність
10 амінокислотних залишків для зв'язування антигенів і надають антитілу антигензв'язуючу специфічність. У той же час навіть один варіабельний домен (або половина Fv, що містить тільки три HVR, специфічних по відношенню до антигену) має здатність розпізнавати і зв'язувати антиген, хоча і з більш низькою афінністю, аніж повна ділянка зв'язування.

"Одноланцюгові Fv", які також мають аббревіатуру "sFv" або "scFv", є фрагментами антитіл, які містять домени антитіл V_H і V_L, зв'язані в один поліпептидний ланцюг. Переважно, поліпептид scFv додатково містить поліпептидний лінкер між доменами V_H і V_L, які дають можливість scFv утворювати необхідну структуру для зв'язування антигенів. Для огляду sFv, див. публікацію Pluckthun в The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

20 "Функціональні фрагменти" описаних в даному документі антитіл містять частину інтактного антитіла, що зазвичай включає антигензв'язуючу або варіабельну область інтактного антитіла або Fc-область антитіла, яка зберігає або модифікує можливість зв'язуватися FcR. приклади фрагментів антитіл включають в себе лінійні антитіла, молекули одноланцюгових антитіл і мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

25 Термін "діатіла" відноситься до малих фрагментів антитіл, одержаних в результаті конструювання sFv-фрагментів (див. попередній параграф) з короткими лінкерами (приблизно 5-10 залишків) між доменами V_H і V_L, з метою забезпечення спарювання

V-доменів між ланцюгами, але не всередині ланцюгів, в результаті чого утворюється двовалентний фрагмент, тобто, фрагмент, що має дві антигензв'язуючі ділянки. Біспецифічні антитіла є гетеродимерами двох "кросоверних" sFv-фрагментів, в яких домени V_H і V_L двох антитіл представлені на різних поліпептидних ланцюгах. Діатіла описані більш детально, наприклад, в EP 404097; WO 93/11161; Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993).

35 Моноклональні антитіла в даному документі зокрема включають в себе "химерні" антитіла (імуноглобуліни), в яких частина важкого і/або легкого ланцюга ідентична або гомологічна до відповідних послідовностей антитіл конкретного виду тварин або антитіл, що належать до конкретного класу або підкласу, в той час як інша частина ланцюга(ів) ідентична або гомологічна до відповідних послідовностей антитіл іншого виду тварин або антитіл, що належать до іншого класу або підкласу, а також фрагменти таких антитіл, за умови, що вони виявляють бажану біологічну активність (описано в патенті США № 4816567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Химерні антитіла, що представляють інтерес, включають в себе антитіла PRIMATTZFD[®], в яких антигензв'язуюча область антитіла походить від антитіл, одержаних, наприклад, шляхом імунізації мавп макак антигеном, що представляє інтерес. В даному контексті термін "гуманізоване антитіло" застосовується для позначення
45 підмножини "химерних антитіл".

"Гуманізовані" форми антитіл нелюдського походження (наприклад, верблюда) представляють собою химерні антитіла, що містять мінімальні послідовності, які є похідними від імуноглобуліну нелюдського походження. У деяких варіантах здійснення даного винаходу гуманізованим антитілом є імуноглобулін людини (реципієнтне антитіло), в якому залишки з HVR реципієнта (описані далі) замінюють залишками з HVR видів нелюдського походження (донорське антитіло), наприклад, миші, щура, кролика або нелюдиноподібного примата, при цьому антитіло володіє бажаною специфічністю, афінністю і/або активністю. У деяких випадках каркасні ("FR") залишки імуноглобуліну людини замінюють відповідними залишками нелюдського походження. Крім того, гуманізовані антитіла можуть містити залишки, що відсутні в реципієнтному антитілі або в донорському антитілі. Ці модифікації можна здійснити для подальшого уточнення характеристик антитіл, таких як афінність зв'язування. Як правило, гуманізоване антитіло містить по суті всі або щонайменше один, а зазвичай два варіабельних домени, в яких всі або по суті всі гіперваріабельні петлі відповідають гіперваріабельним петлям послідовності імуноглобуліну нелюдського походження, і все або по суті всі FR-області є такими
60 областями, які відносяться до послідовності імуноглобуліну людини, проте FR-області можуть

включати в себе одну або декілька заміни окремих FR-залишків, що покращує характеристики антитіл, такі як афінність зв'язування, ізомеризація, імуногенність і т.п. Кількість цих амінокислотних заміни в FR зазвичай не перевищує 6 в H-ланцюзі, а в L-ланцюзі – не більше 3. У деяких випадках гуманізоване антитіло також може містити щонайменше частину константної області імуноглобуліну (Fc), як правило, імуноглобуліну людини. Для одержання додаткової інформації див., наприклад, Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-329 (1988); і Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2: 593-596 (1992). Крім того, див., наприклад, Vaswani і Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1: 105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23: 1035-1038 (1995); Hurle і Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5: 428-433 (1994); і в патенті США №№ 6982321 і 7087409.

"Антитіло людини" є антитілом, що має амінокислотну послідовність, яка відповідає послідовності антитіла, продукованого в організмі людини і/або одержаного за допомогою будь-якої методики одержання антитіл людини, описаних в даному документі. Це визначення антитіла людини, зокрема, не включає гуманізоване антитіло, що містить антигензв'язуючі залишки нелюдського походження. Антитіла людини можна одержати за допомогою різних методик, відомих в даній галузі техніки, включаючи бібліотеки фагового дисплея. Hoogenboom і Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222: 581 (1991). Також для одержання моноклональних антитіл людини доступні способи, описані в Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., *J. Immunol.*, 147 (1): 86-95 (1991). Див. Також van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5: 368-74 (2001). Антитіла людини можна одержати шляхом введення антигену в організм трансгенної тварини, модифікованого з метою продукування таких антитіл у відповідь на антигенну стимуляцію, при цьому ендogenous локуси зазначеної тварини відключені, наприклад, імунізованих ксеномішей (див., наприклад, в патенті США №№ 6075181 і 6150584 щодо технології XENOMOUSE™). Див. також, наприклад, Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 3557-3562 (2006) відносно антитіл людини, одержаних за допомогою технології В-клітинної гібридомії людини.

У даному контексті термін "Гіперваріативна область", "HVR" або "HV" відноситься до областей варіабельного домену антитіла, які характеризуються гіперваріабельністю послідовностей і/або утворюють структурно визначені петлі. Як правило, однодоменні антитіла містять три HVR (або CDR): HVR1 (або CDR1), HVR2 (або CDR2) і HVR3 (або CDR3). HVR3 відображає найбільшу різноманітність трьох HVR і, як вважають, відіграє унікальну роль в додаванні тонкої специфічності антитіл. Див., наприклад, Hamers-Casterman et al., *Nature* 363: 446-448 (1993); Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3: 733-736 (1996).

Термін "область, яка визначає компліментарність" або "CDR" застосовується для позначення гіперваріабельних областей, визначених системою Kabat. Див. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991).

Існує ряд визначень HVR, охоплених даною заявкою. Області, які визначають компліментарність (CDR) за Kabat, основані на варіабельності послідовностей і є найбільш часто вживаними (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Замість цього, Chothia звертає увагу на локалізацію структурних петель (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987)). AbV HVR представляють собою компроміс між CDR за Kabat і структурними петлями за Chothia і застосовуються в програмному забезпеченні для моделювання антитіл AbM від Oxford Molecular. "Контактні" HVR основані на аналізі доступних складних кристалічних структур. Залишки з кожної з цих HVR відзначені нижче в Таблиці 1.

Визначення HVR

Петля	Kabat	AbM	Chothia	Контакт
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
(Нумерація за Kabat)				
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
(Нумерація за Chothia)				
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

5 HVR можуть містити "розширені HVR", представлені нижче: 24-36 або 24-34 (L1), 46-56 або 50-56 (L2) і 89-97 або 89-96 (L3) в VL і 26-35 (H1), 50-65 або 49-65 (H2), і 93-102, 94-102 або 95-102 (H3) в V_H. Для кожного з цих визначень залишки в варіабельних доменах нумеруються за Kabat et al., вище.

10 Амінокислотні залишки однодомного антитіла (такі як V_HH) нумеруються згідно із загальною нумерацією для доменів V_H за Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, Md., Publication No. 91), стосовно доменів V_HH від представників сімейства верблюжих в статті Riechmann і Muyldermans, J. Immunol. Methods
15 2000 Jun. 23; 240 (1-2): 185-195. Згідно із цією нумерацією FR1 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 1-30, CDR1 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 31-35, FR2 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 36-49, CDR2 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 50-65, FR3 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 66-94, CDR3 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 95-102 і FR4 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 103-113. В цьому відношенні слід відзначити, що, як добре відомо в даній галузі техніки для доменів V_H і для доменів V_HH, загальна кількість амінокислотних залишків в кожній з CDR може варіюватися і може не відповідати загальній кількості амінокислотних залишків, позначених згідно із нумерацією Kabat (тобто, одне або декілька
20 положень згідно з нумерацією Kabat не обов'язково можуть бути зайняті в конкретній послідовності, або конкретна послідовність може містити більше амінокислотних залишків, ніж кількість, допустима нумерацією Kabat).

25 Вирази "нумерація залишків варіабельного домену за Kabat" або "нумерація положень амінокислот за Kabat" і їх варіанти відносяться до системи нумерації, яка застосовується для варіабельних доменів важкого або легкого ланцюга згідно з поданням про антитіла в публікації Kabat et al., вище. При застосуванні цієї системи нумерації конкретна лінійна амінокислотна послідовність може містити меншу кількість амінокислот або додаткові амінокислоти, відповідні укорочення або вставки в FR або HVR варіабельного домену. Наприклад, варіабельний домен важкого ланцюга може містити вставку однієї амінокислоти (залишок 52A згідно з Kabat) після залишку 52 в H2 і вставлені залишки (наприклад, залишки 82A, 82b і 82c і т.д., згідно з Kabat)
30 після залишку 82 FR важкого ланцюга. Нумерацію залишків за Kabat можна визначити для даного антитіла шляхом вирівнювання областей гомології послідовності антитіла зі "стандартною" послідовністю, пронумерованою за Kabat.

35 Якщо не вказано інше, нумерація залишків в важкого ланцюга імуноглобуліну відповідає нумерації індексу ЄС згідно з Kabat et al., вище. "Індекс EU згідно з Kabat" відноситься до нумерації залишків антитіла IgG1 EU людини.

"Каркасні" або "FR" -залишки представляють собою залишки варіабельного домену, які не є залишками HVR, згідно з визначенням в даному документі.

40 "Людський консенсусний каркас" або "людський акцепторний каркас" є структурою, яка представляє собою амінокислотні залишки, які найбільш часто зустрічаються у відборі каркасних послідовностей V_L або V_H імуноглобуліну людини. Зазвичай відбір послідовностей V_L або V_H імуноглобуліну людини здійснюють з підгрупи послідовностей варіабельного домену. Як правило, підгрупа послідовностей є підгрупою, як описано в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.

(1991). У разі V_L , приклади включають в себе підгрупу, яка може бути підгрупою каппа I, каппа II, каппа III або каппа IV, як описано в Kabat et al., вище. Крім того, в разі V_H , підгрупа може бути підгрупою I, підгрупою II або підгрупою III, як описано в Kabat et al. В альтернативному варіанті, людський консенсусний каркас може бути похідним від вищеописаних конкретних залишків, наприклад, коли людський каркасний залишок вибирають на основі його гомології з донорським каркасом шляхом вирівнювання послідовності донорського каркасу з набором різних послідовностей людського каркасу. Акцепторний людський каркас, "похідний від" каркасу імуноглобуліну людини або людського консенсусного каркасу, може мати таку ж амінокислотну послідовність або може містити раніше існуючі зміни в амінокислотній послідовності. У деяких варіантах здійснення даного винаходу кількість існуючих раніше амінокислотних змін становить 10 або менше, 9 або менше, 8 або менше, 7 або менше, 6 або менше, 5 або менше, 4 або менше, 3 або менше, або 2 або менше.

"Амінокислотна модифікація" в заданому положенні, наприклад, Fc-області, відноситься до заміни або делеції зазначеного залишку або вставки щонайменше одного амінокислотного залишку, суміжного з зазначеним залишком. Термін "вставка, суміжна із зазначеним залишком" означає вставку в межах одного-двох залишків. Вставка може бути N-кінцевою або C-кінцевою відносно зазначеного залишку. Бажана модифікація амінокислоти в даному винаході є заміною.

Антитіло "з дозрілою афінністю" є антитілом, яке містить одну або декілька змін в одній або більшій кількості HVR, що призводять до посилення афінності антитіла до антигену в порівнянні з початковим антитілом, що не містить зазначеної(их) змін(и). В одному варіанті здійснення даного винаходу антитіло з дозрілою афінністю характеризується наномолярними або навіть пікомолярними значеннями афінності до антигену-мішені. Антитіла з дозрілою афінністю можна одержати за допомогою різних методик, відомих в даній галузі техніки. Наприклад, Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992) описує дозрівання афінності при і перетасування доменів V_H і V_L . Випадковий мутагенез HVR і/або каркасних залишків описаний, наприклад, в: Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91: 3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169: 147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155: 1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154 (7): 3310-9 (1995); і Hawkins et al., *J. Mol. Biol.* 226: 889-896 (1992).

У даному контексті термін "специфічно зв'язується", "специфічно розпізнається" або "специфічний для" відноситься до вимірюваних і відтворених взаємодій, таких як зв'язування між мішенню і антигензв'язуючим білком (таким як CAR або sdAb), що є визначальним для підтвердження факту наявності мішені при наявності гетерогенної популяції молекул, включаючи біологічні молекули. Наприклад, антигензв'язуючий білок (такий як CAR або sdAb), який специфічно зв'язує мішень (яка може бути епітопом), є антигензв'язуючим білком (таким як CAR або sdAb), який зв'язує цю мішень з більшою афінністю, авідністю, легкістю і/або тривалістю, в порівнянні з іншими мішенями. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ступінь зв'язування антигензв'язуючого білка (такого як CAR або sdAb) з незв'язаною мішенню становить менше ніж приблизно 10 % зв'язування антигензв'язуючого білка (такого як CAR або sdAb) з вказаною мішенню, що вимірюється, наприклад, за допомогою радіоімуноаналізу (RIA). У деяких варіантах здійснення даного винаходу антигензв'язуючий білок (такий як CAR або sdAb), який специфічно зв'язує мішень, має константу дисоціації (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ або $\leq 0,1$ нМ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антигензв'язуючий білок (такий як CAR або sdAb) специфічно зв'язує епітоп на білку, який є консервативним серед білків від різних видів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу специфічне зв'язування може включати в себе, проте не вимагає виняткового зв'язування.

Термін "специфічність" відноситься до селективного розпізнавання антигензв'язуючого білка (такого як CAR або sdAb) для конкретного епітопу антигену. Природні антитіла, наприклад, є моноспецифічними. В даному контексті термін "мультиспецифічний" означає, що антигензв'язуючий білок (такий як CAR або sdAb) має дві або більшу кількість антигензв'язуючих ділянок, з яких щонайменше дві зв'язують інший антиген або інший епітоп того ж антигену. В даному контексті термін "біспецифічний" означає, що антигензв'язуючий білок (такий як CAR або sdAb) характеризується двома різними антигензв'язуючим специфічностями. В даному контексті термін "моноспецифічний" CAR означає антигензв'язуючий білок (такий як CAR або sdAb), який має одну або більшу кількість ділянок зв'язування, кожна з яких зв'язує один і той же епітоп одного і того ж антигену.

У даному контексті термін "валентність" означає наявність визначеної кількості ділянок зв'язування в антигензв'язуючому білку (такому як CAR або sdAb). Природне антитіло, наприклад, або повнорозмірне антитіло, має дві зв'язуючі ділянки і є двовалентним. Таким чином, терміни "тривалентний", "чотиривалентний", "п'ятивалентний" і "шестивалентний" вказують на наявність двох ділянок зв'язування, трьох ділянок зв'язування, чотирьох ділянок

зв'язування, п'яти ділянок зв'язування і шести ділянок зв'язування, відповідно, в антигензв'язуючому білку (наприклад, CAR або sdAb).

"Ефекторні функції антитіла" відносяться до біологічних видів активності, властивим Fc-області (Fc-область з нативною послідовністю або варіант амінокислотної послідовності Fc-області) антитіла, і змінюються в залежності від ізотипу антитіла. Приклади ефекторних функцій антитіла включають в себе: зв'язування C1q і комплемент-залежну цитотоксичність; зв'язування з рецептором Fc; антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (ADCC); фагоцитоз; придушення рецепторів поверхні клітини (наприклад, рецепторів В-клітин); і активацію В-клітин. "Знижена або мінімізована" ефекторна функція антитіла означає, що функція знижена щонайменше на 50 % (в альтернативному варіанті 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) у порівнянні з антитілом дикого типу або немодифікованим антитілом. Ефекторну функцію антитіла легко може визначити і виміряти фахівець в даній галузі техніки. У переважному варіанті здійснення даного винаходу впливають на ефекторні функції антитіла відносно зв'язування комплементу, функції комплемент-залежної цитотоксичності і антитілозалежної цитотоксичності. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ефекторна функція усувається за допомогою мутації в константній області, яка усуває глікозування, наприклад, "мутація без ефектору". В одному аспекті мутація без ефектору є мутацію N297A або DANA (D265A+N297A) в області C_H2. Shields et al., J. Biol. Chem. 276 (9): 6591-6604 (2001). В альтернативному варіанті додаткові мутації, що призводять до зменшення або усунення ефекторної функції, включають в себе: K322A і L234A/L235A (LALA). В альтернативному варіанті ефекторну функцію можна зменшити або усунути за допомогою методів продукування, таких як експресія в клітинах-господарях, яка при відсутності глікозилування (наприклад, E. coli.) Або в результаті зміненого профілю глікозилування є неефективним або менш ефективним при підвищенні ефекторної функції (наприклад, Shinkawa et al., J. Biol. Chem. 278 (5): 3466-3473 (2003)).

"Антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність" або ADCC відноситься до форми цитотоксичності, при якій Ig, що секретується, зв'язується з Fc-рецепторами (FcR), присутніми на деяких цитотоксичних клітинах (наприклад, клітини природні кілери (NK), нейтрофіли і макрофаги), дозволяючи цим цитотоксичним ефекторним клітинам специфічно зв'язуватися з антигенвмісною клітиною-мішенню і згодом вбивати клітину-мішень цитотоксинів. Антитіла "озброюють" цитотоксичні клітини і необхідні для знищення клітини-мішені за допомогою цього механізму. Первинні клітини для опосередкування ADCC, NK-клітини, експресують тільки FcγRIII, тоді як моноцити експресують FcγRI, FcγRII і FcγRIII. Зведена інформація про експресії Fc на гемопоетичних клітинах наведена в Таблиці 3 на сторінці 464 публікації Ravetch і Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991). Для оцінки активності ADCC молекули, що представляє інтерес, можна провести аналіз ADCC *in vitro*, такий як описаний в патенті США № 5500362 або 5821337. Як ефекторні клітини в таких аналізах можна застосовувати мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК) і клітини-натуральні кілери (NK). В альтернативному або додатковому варіанті активність ADCC молекули, що представляє інтерес, можна оцінити *in vivo*, наприклад, на моделі тварини, такої як описано в публікації Clynes et al., PNAS USA 95: 652-656 (1998).

У даному контексті термін "Fc-область" застосовується для визначення C-кінцевої області важкого ланцюга імуноглобуліну, включаючи Fc-області нативної послідовності і варіанти Fc-областей. Незважаючи на те, що кордони Fc-області важкого ланцюга імуноглобуліну можуть варіюватися, Fc-область важкого ланцюга IgG людини зазвичай визначається як розтягнута з амінокислотного залишку в положенні Cys226 або з Pro230 у напрямку до її карбоксильного кінця. C-кінцевий лізин (залишок 447 згідно із системою нумерації EU) Fc-області можна видалити, наприклад, під час продукування або очищення антитіла, або за допомогою рекомбінантного конструювання нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг зазначеного антитіла. Відповідно, композиція інтактних антитіл може містити популяції антитіл з видаленими залишками K447, популяції антитіл без видалених залишків K447 і популяції антитіл, що мають суміш антитіл із залишком K447 і без нього. Придатні Fc-області з нативними послідовностями для застосування в антитілах, описаних в даному документі, включають в себе IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B) IgG, IgG3 і IgG4.

Як правило, термін "афінність зв'язування" відноситься до сили суми нековалентних взаємодій між однією ділянкою зв'язування молекули (наприклад, антитіла або CAR) та її партнером по зв'язуванню (наприклад, антигеном). Якщо не вказано інше, в даному документі "афінність зв'язування" відноситься до властивій молекулі афінності зв'язування, що відображає взаємодію між членами пари зв'язуваних компонентів (наприклад, антитілом і антигеном, або CAR і антигеном) при їх співвідношенні 1:1. Афінність молекули X до її партнера Y, як правило,

можна представити у вигляді константи дисоціації (Kd). Афіність можна виміряти за допомогою загальноприйнятих способів, відомих в даній галузі техніки, в тому числі тих, які описані в даному документі. Як правило, низькоафінні антитіла пов'язують антиген повільно і схильні легко дисоціювати, тоді як високоафінні антитіла, як правило, зв'язують антиген швидше і

5 мають тенденцію залишатися зв'язаними довше. У даній галузі техніки відомі різні способи вимірювання афінності зв'язування, кожний з яких може застосовуватися для цілей даного винаходу. Конкретні ілюстративні і типові варіанти здійснення даного винаходу, пов'язані з вимірюванням афінності зв'язування, описані в даному документі.

10 "Блокуюче" антитіло або "антагоністичне" антитіло є таким антитілом, яке інгібує або зменшує біологічну активність антигену, з яким воно зв'язується. У деяких варіантах здійснення даного винаходу блокуючі антитіла або антагоністичні антитіла по суті або повністю інгібують біологічну активність антигену.

15 "Агоністичне" або антитіло, що активує антитіло є таким антитілом, яке підсилює або ініціює передачу сигналу антигеном, з яким воно зв'язується. У деяких варіантах здійснення даного винаходу агоністичні антитіла зумовлюють або активують передачу сигналу без присутності природного ліганду.

20 "Відсоток (%) ідентичності амінокислотної послідовності" або "гомологію" щодо послідовності пептиду, поліпептиду або антитіла визначають як відсоток амінокислотних залишків послідовності-кандидата, ідентичних амінокислотним залишкам специфічної пептидної або поліпептидної послідовності після вирівнювання послідовностей і введення гепів, якщо це необхідно для досягнення максимального відсотка ідентичності послідовностей, причому при визначенні ідентичності послідовностей консервативні заміни не враховуються. Вирівнювання амінокислотних послідовностей з метою визначення відсотка їх ідентичності можна здійснити різними способами, відомими фахівцям в даній галузі техніки, наприклад, за допомогою широко

25 доступного програмного забезпечення, такого як програми BLAST, BLAST-2, ALIGN або MEGALIGN™ (DNASTAR). Фахівці в цій галузі техніки можуть визначити відповідні параметри для вимірювання ступеня вирівнювання, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання на повній довжині послідовностей, які підлягають порівнянню.

30 У даному контексті термін "химерний рецептор антигенів" або "CAR" відноситься до генно-інженерних рецепторів, які можна застосовувати для щеплення однієї або більшої кількості антигенних специфічностей в імунні ефекторні клітини, такі як Т-клітини. Деякі CAR також відомі як "штучні рецептори Т-клітин", "химерні рецептори Т-клітин" або "химерні імунні рецептори". У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий

35 домен, специфічний для одного або більшої кількості антигенів (таких як пухлинні антигени), трансмембранний домен і внутрішньоклітинний сигнальний домен Т-клітин і/або інші рецептори. "CAR-T" відноситься до Т-клітини, яка експресує CAR.

40 "Виділена" молекула нуклеїнової кислоти, що кодує CAR, або sdAb, описані в даному документі, є молекулою нуклеїнової кислоти, яка є ідентифікованою і відділена щонайменше від однієї контамінуючої молекули нуклеїнової кислоти, з якою вона зазвичай зв'язана в середовищі, яке є середовищем її продукування. Переважно, виділена нуклеїнова кислота не зв'язана з усіма компонентами, зв'язаними із середовищем продукування. Виділені молекули нуклеїнової кислоти, що кодують поліпептиди і антитіла, описані в даному документі,

45 перебувають у формі, що відрізняється від форми або компонування, в якій вона зустрічається в природі. Таким чином, виділені молекули нуклеїнової кислоти відрізняються від нуклеїнової кислоти, яка існує в природних умовах в клітинах і кодує поліпептиди і антитіла, описані в даному документі.

Термін "контрольні послідовності" відноситься до послідовностей ДНК, що необхідні для експресії функціонально зв'язаної кодуючої послідовності в конкретному організмі господаря. Контрольні послідовності, які придатні для введення в прокаріоти, наприклад, включають в себе промотор, в деяких випадках операційну послідовність і ділянку зв'язування рибосом. Відомо, що в клітині застосовуються промотори, сигнали поліаденілювання і енхансери.

50 Нуклеїнова кислота є "функціонально зв'язаною", якщо вона вступає в функціональне взаємовідношення з іншою послідовністю нуклеїнової кислоти. Наприклад, ДНК передпослідовності або секреторного лідера є функціонально зв'язаною з ДНК поліпептиду, якщо вона експресується як пребілок, який бере участь в секреції цього поліпептиду; промотор або енхансер функціонально зв'язаний з кодуючою послідовністю, якщо він впливає на транскрипцію цієї послідовності, або ділянку зв'язування рибосом функціонально зв'язану з кодуючою послідовністю, якщо він розташований так, щоб оптимізувати процес трансляції. В

60 цілому, "функціонально зв'язаний" означає, що послідовності ДНК, будучи зв'язаними, є

безперервними і, в разі наявності секреторного лідера, безперервними і в фазі зчитування. Проте, енхансери не повинні бути безперервними. Зв'язування супроводжується лігуванням по відповідним ділянкам рестрикції. Якщо таких ділянок немає, то згідно із підходящою методикою застосовуються синтетичні олігонуклеотидні адаптори або лінкери.

5 У даному контексті термін "вектор" відноситься до молекули нуклеїнової кислоти, здатної забезпечувати репродукцію іншої, зв'язаної з нею нуклеїнової кислоти. Термін включає вектор, що знаходиться у вигляді саморекплікованої нуклеїнової кислоти, а також вектор, здатний вбудовуватися в геном клітини-господаря, в яку його вводять. Деякі вектори здатні керувати експресією нуклеїнових кислот, з якими вони перебувають у функціональному зв'язку. Такі вектори в даному документі називають "експресуючими векторами".

10 У даному контексті термін "аутологічний" призначений для позначення будь-якого матеріалу, одержаного від того ж індивідуума, якому пізніше цей матеріал буде повторно введений.

Термін "алогенний" відноситься до трансплантату, одержаного від іншого індивідуума того ж виду.

15 У даному контексті термін "трансфікований" або "трансформований", або "трансдукований" відноситься до способу, за допомогою якого екзогенну нуклеїнову кислоту переносять або вводять в клітину-господаря. "Трансфікована" або "трансформована", або "трансдукована" клітина є трансфікованою, трансформованою або трансдукованою екзогенною нуклеїною кислотою. Клітина включає в себе первинну оригінальну клітину та її потомство.

20 У даному контексті вираз "клітина", "лінія клітин" і "культура клітин" застосовуються як взаємозамінні, і всі такі позначення включають в себе потомство. Таким чином, слова "трансфектанти" і "трансфіковані клітини" включають в себе первинну оригінальну клітину і одержані з неї культури, незалежно від кількості пасажів. Також зрозуміло, що все потомство не може бути точно ідентичним за змістом ДНК через навмисні або ненавмисні мутації. В обсяг даного опису входить варіант потомства, одержаний шляхом скринінгу, який володіє такою ж функцією або біологічною активністю, що і первинно трансформована клітина.

25 Терміни "клітина-господар", "лінія клітин-господарів" і "культура клітин-господарів" в даному документі застосовуються як взаємозамінні і відносяться до клітин, в які введена екзогенна нуклеїнова кислота, включаючи потомство таких клітин. Клітини-господарі включають в себе "трансформанти" і "трансформовані клітини", які включають в себе первинно трансформовані клітини і одержане з них потомство, незалежно від числа пасажів. Потомство може не бути повністю ідентичним батьківській клітині за змістом нуклеїнових кислот і може містити мутації. В обсяг даного опису входить мутантне потомство, одержане шляхом скринінгу або відбору, яке володіє такою ж функцією або біологічною активністю, що і первинно трансформована клітина.

35 У даному контексті термін "лікування" або "вплив" є підходом для одержання корисних або бажаних результатів, що включає в себе клінічні результати. Для цілей даного винаходу корисні або бажані клінічні результати включають в себе один або декілька з наступних явищ, але не обмежуються ними: полегшення одного або більшої кількості симптомів, викликаних захворюванням, зменшення ступеня тяжкості захворювання, стабілізація захворювання (наприклад, запобігання або уповільнення погіршення захворювання), запобігання або уповільнення поширення (наприклад, метастазування) захворювання, запобігання або уповільнення розвитку рецидиву захворювання, уповільнення і затримку прогресування захворювання, зменшення інтенсивності захворювання, досягнення ремісії (часткової або повної) захворювання, зменшення дози одного або більшої кількості інших лікарських засобів, необхідних для лікування захворювання, затримку прогресування захворювання, підвищення якості життя і/або подовження виживання. Термін "лікування" також відноситься до зниження вираженості патологічних наслідків раку. Способи за даним винаходом припускають один або більшу кількість з цих аспектів лікування.

40 У даному контексті термін "індивідуум" або "суб'єкт" відноситься до ссавця, включаючи в себе, але не обмежуючись ними, людину, бика, коня, представника котячих, собаку, гризуна або примата. У деяких варіантах здійснення даного винаходу індивідуум є людиною.

50 У даному контексті термін "ефективна кількість" відноситься до кількості агента, такого як однодоменне антитіло, сконструйована імунна ефекторна клітина або його фармацевтична композиція, достатнього для лікування певного порушення, патологічного стану або захворювання, наприклад, досягаючи поліпшення, ослаблення, зменшення інтенсивності та/або затримки розвитку одного або більшої кількості симптомів. Відносно раку, ефективна кількість включає кількість, достатню для того, щоб викликати зменшення об'єму пухлини і/або зменшення швидкості росту пухлини (наприклад, для пригнічення росту пухлини), або запобігання або затримання іншої небажаної проліферації клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ефективна кількість є кількістю, достатньою для затримки розвитку. У деяких

варіантах реалізації ефективна кількість є кількістю, достатньою для попередження або затримки розвитку рецидиву. Ефективна кількість може бути введена за одне або декілька введень. Ефективна кількість лікарського засобу або композиції може: (i) знижувати кількість ракових клітин; (ii) зменшувати розмір пухлини; (iii) пригнічувати, затримувати, уповільнювати до деякої міри і, переважно, зупиняти інфільтрацію ракових клітин в периферичні органи; (iv) пригнічувати (тобто, уповільнювати до деякої міри і, переважно, зупиняти) метастазування пухлини; (v) пригнічувати ріст пухлини; (vi) попереджати або затримувати виникнення і/або розвиток рецидиву пухлини; і/або (vii) полегшувати до деякої міри один або більшу кількість симптомів, асоційованих з раком.

Термін "ад'ювантні умови" відноситься до клінічної ситуації, при якій індивідуум мав рак, в анамнезі, і, як правило (але не обов'язково), відповідав на терапію, яка включала, але не обмежувалася цим, хірургічне втручання (наприклад, хірургічну резекцію), променеви терапію і хіміотерапію. Однак через наявність в їх анамнезі раку, ці індивідууми розцінюються як схильні до ризику розвитку захворювання. Лікування або введення в "ад'ювантних умовах" відноситься до чергового режиму лікування. Ступінь ризику (наприклад, коли індивідуум в ад'ювантних умовах розцінюється як схильний до "високого ризику" або "низького ризику") залежить від кількох факторів, найчастіше від ступеня тяжкості захворювання при першому лікуванні.

Термін "неад'ювантні умови" відноситься до клінічної ситуації, при якій спосіб здійснюють до первинної/остаточної терапії.

У даному контексті термін "затримка" розвитку раку означає відкладання, перешкоджання, уповільнення, стабілізацію і/або відстрочку розвитку захворювання. Ця затримка може бути різної тривалості в часі, в залежності від анамнезу захворювання і/або індивідуума, який отримує лікування. Як очевидно фахівцям в даній галузі техніки, достатня або значна затримка може, по суті, включати в себе запобігання, оскільки захворювання у індивідуума не розвивається. Спосіб, який "затримує" розвиток раку є способом, який зменшує ймовірність розвитку захворювання в даному часовому інтервалі і/або зменшує ступінь захворювання в даному часовому інтервалі в порівнянні з незастосуванням способу. Як правило, такі порівняння ґрунтуються на клінічних дослідженнях з включенням статистично значущого числа індивідуумів. Розвиток раку можна виявити за допомогою стандартних методів, включаючи, але не обмежуючись ними, комп'ютерну аксіальну томографію (CAT Scan), магнітно-резонансну томографію (MPT), абдомінальне ультразвукове дослідження, тести на згортання крові, артеріографію або біопсію. Розвиток може також відноситися до прогресування раку, який може бути спочатку невиявним, і включає виникнення, рецидив і перші прояви.

Термін "фармацевтичний склад" відноситься до препарату, представленого в формі, що забезпечує ефективність біологічної активності активного інгредієнта, і не містить додаткових компонентів, що володіють неприйнятною токсичністю для суб'єкта, якому слід вводити склад. Такі склади є стерильними. "Стерильний" склад є асептичним або не містить будь-яких живих мікроорганізмів і їх спор.

У даному контексті термін "носії" включають в себе фармацевтично прийнятні носії, допоміжні речовини або стабілізатори, які нетоксичні для клітини або ссавців, що піддаються їх впливу при застосовуваних дозах і концентраціях. Часто фізіологічно прийнятний носій є водним рН-буферизуючим розчином. Приклади фізіологічно прийнятних носіїв включають в себе буфери, наприклад, на основі фосфорної, лимонної та інших органічних кислот; антиоксиданти, що включають аскорбінову кислоту і метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламонію хлорид; гексаметонію хлорид; бензалконію хлорид; бензетонію хлорид; феноловий, бутиловий або бензиловий спирт; алкілпарабени, такі як метил або пропілпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; і м-крезол); низькомолекулярні (менш ніж приблизно 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глутамін, аспарагін, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші вуглеводи, які включають глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі засоби, такі як ЕДТА; цукри, такі як сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворюючі протиіони, такі як натрій; комплекси металів (наприклад, Zn-білкові комплекси); і/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як TWEEN™, поліетиленгліколь (ПЕГ) і PLURONICS™, або поліетиленгліколь (ПЕГ).

Запропонований в даному документі термін "розріджувач" означає фармацевтично прийнятний (безпечний і нетоксичний для введення людині) і придатний для приготування рідкої композиції, такої як композиція, відновлена після ліофілізації. Приклади розріджувачів включають в себе стерильну воду, бактеріостатичну воду для ін'єкцій (BWFI), рН-буферизуючий розчин (наприклад, забуферений фосфатом фізіологічний розчин), стерильний сольовий розчин, розчин Рінгера або розчин глюкози. В альтернативному варіанті здійснення даного

винаходу розріджувачі можуть включати в себе водні розчини солей і/або буферів.

"Консервант" представляє собою сполуки, яка може бути додана до складів, описаних в даному документі, для зниження активності бактерій. Додавання консерванту може, наприклад, сприяти одержанню складу багаторазового застосування (багатодозового складу). Приклади потенційних консервантів включають в себе хлорид октадецилдиметилбензиламонію, хлорид гексаметонію, хлорид бензалконію (суміш хлоридів алкілбензилдиметиламонію, в яких алкіли є сполуками з довгим ланцюгом) і хлорид бензетонію. Інші типи консервантів включають в себе ароматичні спирти, такі як фенол, бутіл і бензиловий спирт, алкілпарабени, такі як метил або пропілпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол і м-крезол. Найкращим консервантом в даному винаході є бензиловий спирт.

"Стабільний" склад є складом, в якому білок по суті зберігає свою фізичну і хімічну стабільність і цілісність при зберіганні. Різні аналітичні методи для вимірювання стабільності білка доступні в даній галузі техніки і розглядаються в публікації Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N. Y., Pubs. (1991) and Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993). Стабільність можна виміряти при вибраній температурі протягом вибраного періоду часу. Для швидкого скринінгу складу можна витримати при 40 °C протягом періоду часу від 2 тижнів до 1 місяця, після чого виміряти стабільність. Якщо склад зберігається при температурі 2-8 °C, як правило, він повинен бути стабільним при температурі 30 °C або 40 °C протягом щонайменше 1 місяці і/або повинен бути стабільним при температурі 2-8 °C протягом по щонайменше 2 років, якщо склад зберігається при температурі 30 °C, як правило, він повинен бути стабільним протягом щонайменше 2 років при температурі 30 °C і/або повинен бути стабільним при температурі 40 °C протягом щонайменше 6 місяців. Наприклад, ступінь агрегації під час зберігання може використовуватися як індикатор стабільності білка. Таким чином, "стабільний" склад може бути таким, в якому менше 10 %, а переважно менше 5 % білка присутні в формі єдиного скупчення в складі. В інших варіантах здійснення даного винаходу можна визначити будь-який ступінь збільшення скупчення при зберіганні складу.

"Відновлений" склад є складом, який одержують шляхом розчинення ліофілізованого білка або препарату антитіла в розчиннику, в результаті чого білок диспергується по всьому об'єму. Відновлюваний склад є придатним для введення (наприклад, підшкірного введення) пацієнту, який повинен отримувати лікування із застосуванням білка, що представляє інтерес, і в деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути таким, який є придатним для парентерального або внутрішньовенного введення.

"Ізотонічний" склад є таким складом, який має по суті такий ж осмотичний тиск, що і кров людини. Ізотонічні склади зазвичай мають осмотичний тиск від приблизно 250 до 350 мОсм. Термін "гіпотонічний" визначає склад з осмотичним тиском, який є нижчим осмотичного тиску крові людини. Відповідно, термін "гіпертонічний" застосовується для опису складу з осмотичним тиском, який є вище осмотичного тиску крові людини. Ізотонічність можна виміряти, наприклад, за допомогою парофазного осмометра або осмометра за точкою замерзання. Склади за даним винаходом стають гіпертонічними після додавання солі і/або буфера.

Зрозуміло, що варіанти здійснення цього винаходу, описані в даному документі, включають в себе "що складаються" і/або "що складаються по суті з" варіантів здійснення.

В цьому документі посилання на "приблизно" щодо значення або параметра включає (і описує) варіанти, які спрямовані на це значення або параметр як такі. Наприклад, опис, посилаючись на "приблизно X", включає опис "X".

В цьому контексті посилання на "не" відносно значення або параметра, зазвичай, означає "крім" значення або параметра. Наприклад, вираз "зазначений спосіб не застосовують для лікування раку типу X" означає, що цей спосіб не застосовують для лікування типів раку, відмінних від X.

У даному документі термін "приблизно X-Y" повинен мати те ж значення, що і "від приблизно X до приблизно Y".

При використанні по тексту даного документа і доданої формули винаходу, слова в однині означають також множину, якщо з контексту явно не слідує інше.

II. однодоменні антитіла

В одному аспекті даного винаходу пропонуються однодоменні антитіла, їх антигензв'язуючі фрагменти і антигензв'язуючі білки, що містять будь-яке з однодоменних антитіл. Типові однодоменні антитіла наведені в Таблиці 2 нижче.

Типові однодоменні антитіла

Ab	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	CDR1	CDR2	CDR3
Типові однодоменні антитіла анти-CD19					
CD19 V _H H	76	101	INRMG (SEQ ID NO: 1)	SITVRGITNYADSVKG (SEQ ID NO: 2)	VSSNRDPDY (SEQ ID NO: 3)
Типові однодоменні антитіла анти-CD20					
CD20 V _H H	77	102	IGTMG (SEQ ID NO: 4)	AIRWSTGGTRYADSVKG (SEQ ID NO: 5)	DRLSLDLSGRYHYNPAVYDY (SEQ ID NO: 6)
Типові однодоменні антитіла анти-BCMA					
269A 37346	78	103	SGFTLDYYAIG (SEQ ID NO: 7)	CISRSDGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 18)	AGADCSGYLRDYEF (SEQ ID NO: 29)
269A 37348	79	104	SGRTFSTYGMA (SEQ ID NO: 8)	SKASMNYSGRYYADSVKG (SEQ ID NO: 19)	AGTGCSTYGCFDAQIIDY (SEQ ID NO: 30)
269A 37917	80	105	SGRTFTMG (SEQ ID NO: 9)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 20)	ADRKSVMISIRPDY (SEQ ID NO: 31)
269A3 7355	81	106	SGGIFVINAMG (SEQ ID NO: 10)	SIRGLGRNTYDDSVKG (SEQ ID NO: 21)	VYVTLGGVNRDY (SEQ ID NO: 32)
269A 37915	82	107	SGRTFSSIVMG (SEQ ID NO: 11)	AIMWNDGITYLQDSVKG (SEQ ID NO: 22)	ASKGRYSEYEY (SEQ ID NO: 33)
269A 37936	83	108	SGFTFDRAVIV (SEQ ID NO: 12)	FIKPSDGTIYYIDSLKG (SEQ ID NO: 23)	ASPEDWYTDWIDWSIYR (SEQ ID NO: 34)
269A 37953	84	109	STYTVNSDVMG (SEQ ID NO: 13)	AIMWNDGITYLQDSVKG (SEQ ID NO: 24)	ASKGRYSEYEY (SEQ ID NO: 35)
269A 37965	85	110	SGATLTNDHMA (SEQ ID NO: 14)	AIDWSGRRTNYADPVEG (SEQ ID NO: 25)	VLRAWISYDNDY (SEQ ID NO: 36)
269A 37972	86	111	SGGTLSKNTVA (SEQ ID NO: 15)	SITWDGRTTYADSVKG (SEQ ID NO: 26)	DLGKWPAGPADY (SEQ ID NO: 37)
269A 37353	87	112	SEHTFSSHVMG (SEQ ID NO: 16)	VIGWRDISTSYADSVKG (SEQ ID NO: 27)	ARRIDAADFDS (SEQ ID NO: 38)
269A 37948	88	113	SGRAFSTYFMA (SEQ ID NO: 17)	GIAWSSGGSTAYADSVKG (SEQ ID NO: 28)	SRGIEVEEFGA (SEQ ID NO: 39)
Типові однодоменні антитіла анти-CD38					
38A3 7333	89	114	SGLTFSSYPMM (SEQ ID NO: 40)	RISDSGGYNTYDDSVKG (SEQ ID NO: 52)	ILGLPT (SEQ ID NO: 64)
38A3 7336	90	115	SGFTFSSNWMY (SEQ ID NO: 41)	TISTDGRGTYYKDSVKG (SEQ ID NO: 53)	KEPRVLMAYLRNLGDFGS (SEQ ID NO: 65)
38A3 7699	91	116	SGRIF SINAMG (SEQ ID NO: 42)	AISTAGSTNYGDSVKG (SEQ ID NO: 54)	LNFPYVY (SEQ ID NO: 66)
38A3 7331	92	117	SGSIFKVRVFAMS (SEQ ID NO: 43)	SISSGETTTYADSVKG (SEQ ID NO: 55)	ADHTFTGDF (SEQ ID NO: 67)
38A3 7717	93	118	TGKVFSIYDMG (SEQ ID NO: 44)	EITSSGTTHYDDFVSG (SEQ ID NO: 56)	NHVFGGSY (SEQ ID NO: 68)
38A3 7719	94	119	SASIFTRLPMG (SEQ ID NO: 45)	GIVPSGRINYADSVKG (SEQ ID NO: 57)	ADTFPLPT (SEQ ID NO: 69)
38A3 7330	95	120	SGRAYATMA (SEQ ID NO: 46)	HLRVSGDTTYTDSVKG (SEQ ID NO: 58)	GPYGILAAARVSNPGNYDY (SEQ ID NO: 70)
38A3 7334	96	121	SGLTFSSYIMG (SEQ ID NO: 47)	EISSGGMTSYADSVKG (SEQ ID NO: 59)	APERGSIWYSRYEYKY (SEQ ID NO: 71)
38A3 7730	97	122	SQGIFTINAMG (SEQ ID NO: 48)	EVSSGGRTDYADSVKG (SEQ ID NO: 60)	VSGWHVFGDRIV (SEQ ID NO: 72)

38A3 7340	98	123	SGRTFSSYAMA (SEQ ID NO: 49)	SISTSGGITDYADSVKG (SEQ ID NO: 61)	ARTWYLRTSLQYDY (SEQ ID NO: 73)
38A3 7731	99	124	SGTIVSISTMG (SEQ ID NO: 50)	TITRRGRNTNYTDSVKG (SEQ ID NO: 62)	AEVQLDIWASAYDY (SEQ ID NO: 74)
38A3 7326	100	125	SGRTYAMG (SEQ ID NO: 51)	TISGAGNTKYADSVKG (SEQ ID NO: 63)	AGKWFPAANEY (SEQ ID NO: 75)

Однодоменні антитіла анти-CD19

5 В одному аспекті даного винаходу пропонуються виділені однодоменні антитіла, які специфічно зв'язуються з CD19, такими як CD19 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 модулює активність CD19. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є антагоністичним антитілом.

10 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

15 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три CDR, вибрані з (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

20 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 1; (b) CDR2, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 2; і (c) CDR3, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CDR, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно встановленої послідовності, проте однодоменне антитіло анти-CD19, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD19. У деяких варіантах здійснення антитіло анти-CD19 характеризується дозрілою афінністю. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

45 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19, що містить три CDR, які містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19, що містить домен V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно встановленої послідовності, проте однодоменне антитіло анти-CD19, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD19. У деяких варіантах здійснення даного винаходу в цілому від 1 до 10 амінокислот замінені, вставлені і/або видалені в амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу заміни, вставки або делеції зустрічаються в областях, що знаходяться за межами CDR (тобто, в FR). У деяких випадках однодоменне антитіло анти-CD19 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76, що включає в себе посттрансляційні модифікації цієї послідовності. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу функціональні епітопи можуть бути картовані за допомогою комбінаторного аланінового сканування. У цьому процесі стратегію комбінаторного аланінового сканування можна застосовувати для ідентифікації амінокислот у білку CD19, які необхідні для взаємодії з однодоменними антитілами анти-CD19. У деяких варіантах здійснення даного винаходу епітоп є конформаційною і кристалічною структурою однодоменного антитіла анти-CD19, зв'язаного з CD19, яке можна застосовувати для ідентифікації епітопів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з тим же самим епітопом, що і будь-яке з однодоменних антитіл анти-CD19, описаних в даному документі. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і однодоменне антитіло анти-CD19, яке містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD19 або його антигензв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з CD19, конкуруючи з будь-яким з описаних в даному документі однодоменних антитіл анти-CD19. У деяких варіантах здійснення даного винаходу конкурентне зв'язування можна визначити за допомогою аналізу ELISA. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з CD19, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-CD19, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD19 або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з однодоменних антитіл анти-CD19, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 є моноклональним антитілом, що включає в себе верблуже, химерне, гуманізоване або людське антитіло. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 є фрагментом антитіла, наприклад, фрагментом V_HH. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 є повнорозмірним антитілом тільки з важким ланцюгом, що містить Fc-область будь-якого класу або ізотипу антитіл, такого як IgG1 або IgG4. У деяких варіантах даного винаходу Fc-область послаблює або мінімізує ефекторну функцію.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD19 (таке як однодоменне антитіло анти-CD19) або антигензв'язуючий білок згідно з будь-яким з вищенаведених варіантів здійснення даного винаходу може включати в себе будь-яку з ознак окремо або в комбінації, як описано в розділах 1-7 "Характеристики антитіл" нижче.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-яке з антитіл анти-CD19 (наприклад, однодоменні антитіла анти-CD19), описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує однодоменне антитіло анти-CD19, при цьому нуклеїнова кислота містить послідовність, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 101. У деяких варіантах здійснення даного

винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що містить послідовність нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 10 1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор (наприклад, експресуючий вектор), що містить таку нуклеїнову кислоту. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується клітина-господар, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному варіанті здійснення даного винаходу пропонується спосіб одержання антитіла анти-CD19, причому зазначений спосіб включає культивування клітини-господаря, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло анти-CD19, як описано вище, в умовах, що підходять для експресії антитіла анти-CD19, і, в деяких випадках, витягування антитіла анти-CD19 з клітини-господаря (або середовища, в якому культивують клітину-господаря).

Однодоменні антитіла анти-CD20

В одному аспекті даного винаходу пропонується виділені однодоменні антитіла, які специфічно зв'язуються з CD20, такими як CD20 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 модулює активність CD20. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є антагоністичним антитілом.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD20, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD20, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три CDR, вибрані з (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD20, що містить три CDR: (a) CDR1, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 4; (b) CDR2, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 5; і (c) CDR3, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CDR, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно встановленої послідовності, проте однодоменне антитіло анти-CD20, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD20. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 характеризується дозрілою афінністю. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD20, що містить три CDR: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD20, що містить домен V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 10 2.

88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно встановленої послідовності, проте

5
однодоменне антитіло анти-CD20, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD20. У деяких варіантах здійснення даного винаходу в цілому від 1 до 10 амінокислот замінені, вставлені і/або видалені в амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу заміни, вставки або делеції зустрічаються в областях, що

10
знаходяться за межами CDR (тобто, в FR). У деяких випадках однодоменне антитіло анти-CD20 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77, що включає в себе посттрансляційні модифікації цієї послідовності.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD20, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

15
У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу функціональні епітопи можуть бути картовані за допомогою комбінаторного аланінового сканування. У цьому процесі стратегію комбінаторного аланінового сканування можна застосовувати для ідентифікації амінокислот у

20
білку CD20, які необхідні для взаємодії з однодоменними антитілами анти-CD20. У деяких варіантах здійснення даного винаходу епітоп є конформаційною і кристалічною структурою однодоменного антитіла анти-CD20, зв'язаного з CD20, яке можна застосовувати для ідентифікації епітопів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з тим же самим епітопом, що і будь-яке з однодоменних антитіл

25
анти-CD20, описаних в даному документі. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, що зв'язується з тим же епітопом, що і однодоменне антитіло анти-CD20, яке містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD20 або його антигензв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з CD20, конкуруючи з будь-яким з

30
описаних в даному документі однодоменних антитіл анти-CD20. У деяких варіантах здійснення даного винаходу конкурентне зв'язування можна визначити за допомогою аналізу ELISA. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з CD20, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-CD20, яке містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD20 або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з однодоменних антитіл анти-CD20, описаних

35
вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 є моноклональним антитілом, яке включає в себе верблюже, химерне, гуманізоване або людське антитіло. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 є фрагментом антитіла, наприклад, фрагментом V_HH. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 є повнорозмірним антитілом тільки з важким ланцюгом, що містить Fc-область будь-якого класу або ізотипу антитіл, такого як IgG1 або IgG4. У деяких варіантах даного винаходу Fc-область послаблює або мінімізує ефекторну функцію.

40

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 (таке як однодоменне антитіло анти-CD20) або антигензв'язуючий білок згідно з будь-яким з вищенаведених варіантів

45
здійснення даного винаходу може включати в себе будь-яку з ознак окремо або в комбінації, як описано в розділах 1-7 "Характеристики антитіл" нижче.

[155] У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-яке з антитіл анти-CD20 (наприклад, однодоменні антитіла анти-CD20),

50
описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує однодоменне антитіло анти-CD20, при цьому нуклеїнова кислота містить послідовність, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 102. У деяких варіантах здійснення даного

55
винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що містить послідовність нуклеїнової кислоти SEQ

ID NO: 102. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор (наприклад, експресуючий вектор), що містить таку нуклеїнову кислоту. У деяких варіантах

60
здійснення даного винаходу пропонується клітина-господар, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному варіанті здійснення даного винаходу пропонується спосіб одержання

антитіла анти-CD20, причому зазначений спосіб включає культивування клітини-господаря, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло анти-CD20, як описано вище, в умовах, що підходять для експресії антитіла анти-CD20, і, в деяких випадках, витягування антитіла анти-CD20 з клітини-господаря (або середовища, в якому культивують клітину-господаря).

5 Однодоменні антитіла анти-BCMA

В одному аспекті даного винаходу пропонуються виділені однодоменні антитіла, які специфічно зв'язуються з BCMA, такими як BCMA людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA модулює активність BCMA. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є антагоністичним антитілом.

10 В-клітинний зрілий антиген (BCMA), також відомий як CD269, є членом надсімейства рецепторів фактора некрозу пухлин, а саме TNFRSF17 (Thompson et al., J. Exp. Medicine, 192 (1): 129-135, 2000.). BCMA людини практично виключно експресується в клітинах плазми і клітинах множинної мієломи (див., наприклад, Novak et al., Blood, 103 (2): 689-694, 2004; Neri et al., Clinical Cancer Research, 73 (19): 5903-5909; Felix et al., Mol. Oncology, 9 (7): 1348-58, 2015). BCMA може зв'язувати активуючий фактор В-клітин (BAFF) і ліганд, що індукує проліферацію (APRIL) (наприклад, Mackay et al., 2003 and Kalled et al., Immunological Review, 204: 43-54, 2005). BCMA може бути придатною пухлинною антигенною мішенню для імунотерапевтичних агентів при лікуванні множинної мієломи. Антитіла з високою афінністю можуть блокувати зв'язування між BCMA і його нативними лігандами BAFF і APRIL. Однодоменні антитіла анти-BCMA можна застосовувати в комбінації з клітинною імунотерапією із застосуванням CAR-T-клітин, наприклад, для посилення цитотоксичних ефектів, спрямованих проти пухлинних клітин.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 78. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 79. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 81. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 82. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 83. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 84. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 85. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 86. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три CDR, вибрані з (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 7-17; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 18-28; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 29-39. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ідеїдністю до людського консенсусу, і (b) CDR2, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ідеїдністю до людського консенсусу, і (c) CDR3, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ідеїдністю до людського консенсусу.

винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

5 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

10 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. В деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

20 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

25 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

30 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

45 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить домен V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 78-88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно встановленої послідовності, проте однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з BCMA. У деяких варіантах здійснення даного винаходу в цілому від 1 до 10 амінокислот замінені, вставлені і/або видалені в амінокислотній послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 78-88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу заміни, вставки або делеції зустрічаються в областях, що знаходяться за межами CDR (тобто, в FR). У деяких випадках однодоменне антитіло анти-BCMA містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 78-88, що включає в себе посттрансляційні модифікації цієї послідовності.

50 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:

ID NO: 84. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і однодоменне антитіло анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-BCMA або його антигензв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з будь-яким з описаних в даному документі однодоменних антитіл анти-BCMA. У деяких варіантах здійснення даного винаходу конкурентне зв'язування можна визначити за допомогою аналізу ELISA. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA, конкуруючи з однодоменним антитілом анти-BCMA, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-BCMA або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з однодоменних антитіл анти-BCMA, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-BCMA є моноклональним антитілом, яке включає в себе верблуже, химерне, гуманізоване або людське антитіло. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-BCMA є фрагментом антитіла, наприклад, фрагментом V_H. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-BCMA є повнорозмірним антитілом тільки з важким ланцюгом, що містить Fc-область будь-якого класу або ізотипу антитіл, такого як IgG1 або IgG4. У деяких варіантах даного винаходу Fc-область послаблює або мінімізує ефекторну функцію.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-BCMA (таке як однодоменне антитіло анти-BCMA) або антигензв'язуючий білок згідно з будь-яким з вищенаведених варіантів здійснення даного винаходу може включати в себе будь-яку з ознак окремо або в комбінації, як описано в розділах 1-7 "Характеристики антитіл" нижче.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-яке з антитіл анти-BCMA (наприклад, однодоменні антитіла анти-BCMA), описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує однодоменне антитіло анти-BCMA, при цьому нуклеїнова кислота містить послідовність, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до

послідовності нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 103-113. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 103-113. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор (наприклад, експресуючий вектор), що містить таку нуклеїнову кислоту. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується клітина-господар, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному варіанті здійснення даного винаходу пропонується спосіб одержання антитіла анти-BCMA, причому зазначений спосіб включає культивування клітини-господаря, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло анти-BCMA, як описано вище, в умовах, що підходять для експресії антитіла анти-BCMA, і, в деяких випадках, витягування антитіла анти-BCMA з клітини-господаря (або середовища, в якому культивують клітину-господаря).

Однодоменні антитіла анти-CD38

В одному аспекті даного винаходу пропонується виділені однодоменні антитіла, які специфічно зв'язуються з CD38, такими як CD38 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 модулює активність CD38. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 є антагоністичним антитілом.

CD38 є трансмембранним глікопротеїном типу II, асоційованим з рецепторами клітинної поверхні, який регулює приплив цитоплазматичного Ca^{2+} і опосередковує передачу сигналу в лімфоїдних і мієлоїдних тканинах (Konopleva et al., J Immunol, 161: 4702-8, 1998; Deaglio et al., Blood, 109: 5390-8, 2007). CD38 людини сильно і рівномірно експресується на клітинах мієломи, і в той же час експресується у відносно низьких рівнях на нормальних лімфоїдних і мієлоїдних клітинах і в деяких тканинах негемопоетичного походження, що робить його потенційною мішенню при лікуванні мієломи (див., наприклад, Lin et al., Am J Clin Pathol, 2004, 121: 482; HM Lokhorst et al., New Eng. J. Med., 2015, 373: 13).

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 89. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 90. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 91. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 92. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 93. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 94. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 95. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, з Здобувши одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 96. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 97. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 98. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 99. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотні послідовності SEQ ID NO: 100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD38, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три CDR, вибрані з (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 40-51; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 52-63; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 64-75. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 є верблужим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD38 є гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного

до послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 89-100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність V_HH, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно встановленої послідовності, проте однодоменне антитіло анти-CD38, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з CD38. У деяких варіантах здійснення даного винаходу в цілому від 1 до 10 амінокислот замінені, вставлені і/або видалені в амінокислотній послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 89-100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу заміни, вставки або делеції зустрічаються в областях, що знаходяться за межами CDR (тобто, в FR). У деяких випадках однодоменне антитіло анти-CD38 містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 89-100, що включає в себе посттрансляційні модифікації цієї послідовності.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділене однодоменне антитіло анти-CD38, що містить домен V_HH, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу функціональні епітопи можуть бути картовані за допомогою комбінаторного аланінового сканування. У цьому процесі стратегію комбінаторного аланінового сканування можна застосовувати для ідентифікації амінокислот у білку CD38, які необхідні для взаємодії з однодоменними антитілами анти-CD38. У деяких варіантах здійснення даного винаходу епітоп є конформаційною і кристалічною структурою однодоменного антитіла анти-CD38, зв'язаного з CD38, яке можна застосовувати для ідентифікації епітопів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло,

антитілом анти-CD38, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD38 або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з однодоменних антитіл анти-CD38, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD38 є моноклональним антитілом, яке включає в себе верблуже, химерне, гуманізоване або людське антитіло. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-BCMA є фрагментом антитіла, наприклад, фрагментом V_HH. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD38 є повнорозмірним антитілом тільки з важким ланцюгом, що містить Fc-область будь-якого класу або ізотипу антитіл, такого як IgG1 або IgG4. У деяких варіантах даного винаходу Fc-область послаблює або мінімізує ефекторну функцію.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD38 (таке як однодоменне антитіло анти-CD38) або антигензв'язуючий білок згідно з будь-яким з вищенаведених варіантів здійснення даного винаходу може включати в себе будь-яку з ознак окремо або в комбінації, як описано в розділах 1-7 "Характеристики антитіл" нижче.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-яке з антитіл анти-CD38 (наприклад, однодоменні антитіла анти-CD38), описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує однодоменне антитіло анти-CD38, при цьому нуклеїнова кислота містить послідовність, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 114-125. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 114-125. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор (наприклад, експресуючий вектор), що містить таку нуклеїнову кислоту. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується клітина-господар, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному варіанті здійснення даного винаходу пропонується спосіб одержання антитіла анти-CD38, причому зазначений спосіб включає культивування клітини-господаря, що містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло анти-CD38, як описано вище, в умовах, що підходять для експресії антитіла анти-CD38, і, в деяких випадках, витягування антитіла анти-CD38 з клітини-господаря (або середовища, в якому культивують клітину-господаря).

Характеристики антитіл

1. Афіність антитіл

У деяких варіантах здійснення даного винаходу запропонованого в даному документі антитіло має константу дисоціації (K_d) ≤1 мкМ, ≤100 нМ, ≤10 нМ, ≤1 нМ, ≤0,1 нМ, ≤0,01 нМ або г ≤0,001 нМ (наприклад, 10⁻⁸ М або менше, наприклад, від 10⁻⁸ М до 10⁻¹³ М, наприклад, від 10⁻⁹ М до 10⁻¹³ М).

У деяких варіантах реалізації даного винаходу K_d вимірюють за допомогою аналізу зв'язування антигену, міченого радіоактивним ізотопом (RIA), із застосуванням Fab-версії або фрагмента V_HH антитіла, що представляє інтерес, і його антигену згідно із описаним нижче аналізом. Наприклад, афіність зв'язування Fab з антигеном в розчині вимірюють шляхом врівноваження Fab з мінімальною концентрацією (¹²⁵I)-міченого антигену в присутності серії розведень неміченого антигену з подальшим захопленням зв'язаного антигену на планшеті, вкритому антитілом анти-Fab (див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999)). Для визначення умов аналізу багатолункові планшети MICROTITER® (Thermo Scientific) покривали протягом ночі уловлюючим антитілом анти-Fab (Cappel Labs) в концентрації 5 мкг/мл в 50 мМ розчині карбонату натрію (рН 9,6), а потім блокували 2 % (мас./об.) розчином бичачого сироваткового альбуміну в PBS протягом двох-п'яти годин при кімнатній температурі (приблизно 23 °С). У планшеті, що не містить адсорбенту (Nunc № 269620), змішували 100 пМ або 26 пМ [¹²⁵I]-антигену, що представляє інтерес, з серійними розведеннями Fab (наприклад, згідно з оцінкою антитіла до VEGF, Fab-12, описаного в публікації Presta et al., Cancer Res. 57: 4593-4599 (1997)). Потім Fab, що представляє інтерес, інкубували протягом ночі; в той же час, інкубування могли продовжувати протягом більш тривалого періоду (наприклад, приблизно 65 годин) для гарантії досягнення рівноваги. Потім суміш переносили на планшет для захоплення і інкубували при кімнатній температурі (наприклад, протягом години). Потім розчин видаляли і планшети промивали вісім разів 0,1 % полісорбатом-20 (TWEEN-20®) в PBS. Після висушування планшетів додавали 150 мкл сцинтилятора (MICROSCINT-20™; Packard) на лунку і робили підрахунок планшетів на гамма-лічильнику TOPCOUNT™ протягом десяти хвилин. Концентрації кожного Fab, що забезпечували зв'язування, яке менше або дорівнює 20 % від максимального, відбирали для застосування в конкурентному аналізі зв'язування.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу, K_d вимірюють за допомогою аналізу поверхневого плазмонного резонансу при 25 °С, використовуючи BIACORE®-2000 або BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Піскатауей, штат Нью-Джерсі) при 25 °С з чіпами CM5, що іммобілізовані антигеном при ~ 10 одиницях відповіді (RU). Якщо коротко, чіпи біосенсора з карбоксиметильованим декстраном (CM5, BIACORE, Inc.) активували N-етил-N'-(3-диметиламінопропіл)-карбодіімідгідрохлоридом (EDC) та N-гідрокисукцинімідом (NHS) згідно з інструкціями постачальника. Антиген розбавляли 10 мМ розчином ацетату натрію, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~0,2 мкм) і вводили при швидкості потоку 5 мкл/хвилину, досягаючи приблизно 10 одиниць відповіді (RU) зв'язаного білка. Після введення антигену вводили 1 М розчин етаноламіну для блокування непрореагованих груп. Для вимірювання кінетичних параметрів дворазові серійні розведення Fab або V_{NH} антитіла, що представляє інтерес (від 0,78 нМ до 500 нМ), вводили в PBS, що містить 0,05 % полісорбату 20 (TWEEN-20™) як поверхнево-активну речовину (PBST) при 25 °С зі швидкістю потоку, що становить приблизно 25 мкл/хв. Швидкості асоціації (K_{on}) і швидкості дисоціації (K_{off}) розраховували, використовуючи просту взаємно однозначну модель зв'язування Ленгмюра (програма для обробки даних (BIACORE®, версія 3.2) шляхом одночасної підгонки сенсограм асоціації і дисоціації. Рівноважну константу дисоціації (K_d) розраховували як співвідношення K_{off}/K_{on} . Див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації згідно із вищеписаним аналізом поверхневого плазмонного резонансу перевищує $10^6 M^{-1} s^{-1}$, то її можна визначити за допомогою методики гасіння флуоресценції, що вимірює збільшення або зниження інтенсивності випускання флуоресценції (збудження = 295 нм; випускання = 340 нм, смуга пропускання 16 нм) при 25 °С для 20 нМ розчину антитіл проти антигену (в формі Fab) в PBS, pH 7.2, в присутності зростаючих концентрацій антигену, виміряних на спектрометрі, наприклад, на спектрофотометрі з пристроєм зупинки потоку (Aviv Instruments) або спектрофотометрі SLM-AMINCO™ 8000 серії (ThermoSpectronic) з перемішуваною кюветою.

2. Фрагменти антитіл

У деяких варіантах здійснення даного винаходу запропоноване в даному описі антитіло є фрагментом антитіла. Фрагменти антитіл включають в себе, але не обмежуються перерахованим, фрагменти Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, Fv і scFv, V_{NH} , а також інші фрагменти, описані нижче. Огляд деяких фрагментів антитіл див. В Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134 (2003). Огляд фрагментів scFv див., наприклад, в публікації Pluckthün, в The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); див. також в WO 93/16185; і в патентах США №№ 5571894 і 5587458. Опис Fab- і $F(ab')_2$ -фрагментів, що містять залишки епітопів зв'язування рецептора реутилізації і характеризуються збільшеним періодом напіввиведення *in vivo*, див. в патенті США № 5869046.

Діатіла є фрагментами антитіл, що містять дві антигензв'язуючі ділянки, і можуть бути дивовалентними або біспецифічними. Див., наприклад, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003); і Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Тріатіла і тетратіла також описані в публікації Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003).

Фрагменти антитіл можна одержати різними способами, включаючи протеолітичний гідроліз інтактного антитіла, а також продукування рекомбінантними клітинами-господарями (наприклад, E. coli або фагом), як описано в даному документі.

3. Химерні і гуманізовані антитіла

У деяких варіантах здійснення даного винаходу запропоноване в даному описі антитіло є химерним антитілом. Деякі химерні антитіла описані, наприклад, в патенті США № 4816567; і Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). В одному прикладі химерне антитіло містить варіабельну область нелюдського походження (наприклад, варіабельну область, яка походить від представників видів верблюжих, таких як лама) і константну область людини. У ще одному прикладі химерне антитіло є антитілом з "переключеним класом", в якому змінено клас або підклас в порівнянні з батьківським антитілом. Термін "химерні антитіла" включає антигензв'язуючі фрагменти таких антитіл.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу химерне антитіло є гуманізованим антитілом. Як правило, нелюдське антитіло гуманізують, щоб зменшити імуногенність для людини і зберегти при цьому специфічність і афінність батьківського нелюдського антитіла. Як правило, гуманізоване антитіло містить один або більшу кількість варіабельних доменів, в яких HVR, наприклад, CDR (або їх частини) одержані з нелюдського антитіла, а FR (або їх частини) одержані з послідовностей антитіл людини. У деяких випадках гуманізоване антитіло також містить щонайменше фрагмент константної області антитіла людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу деякі FR-залишки в гуманізованому антитілі замінюють відповідними залишками антитіла нелюдського походження (наприклад, антитіла, з якого

одержані залишки HVR), наприклад, з метою відновлення або поліпшення специфічності або афінності антитіла.

Гуманізовані антитіла і способи їх одержання описані, наприклад, в публікаціях Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13: 1619-1633 (2008), і додатково описані, наприклад, в публікаціях Riechmann et al., *Nature* 332: 323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86: 10029-10033 (1989); патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321, і 7087409; Kashmiri et al., *Methods* 36: 25-34 (2005) (описано щеплення SDR (a-CDR)); Padlan, *Mol. Immunol.* 489-498 (1991) (описано "зміна поверхні"); Dall'Acqua et al. *Methods* 36: 43-60 (2005) (описана "перетасування FR"); і Osbourn et al., *Methods* 36: 61-68 (2005) і Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83: 252-260 (2000) (описаний підхід "керованого вибору" перетасування FR).

Каркасні області людини, які можна застосовувати для гуманізації, включають в себе, але не обмежуються ними: каркасні області, вибрані за допомогою методу "найкращої відповідності" (див., наприклад, Sims et al. *J. Immunol.* 151: 2296 (1993)); каркасні області, що походять від консенсусної послідовності антитіл людини конкретної підгрупи варіабельних областей легкого або важкого ланцюга (див., наприклад, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 4285 (1992); і Presta et al. *J. Immunol.*, 2623 (1993); зрілі (містять соматичні мутації) каркасні області людини або ембріональні каркасні області людини (див., наприклад, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 1619-1633 (2008)); і каркасні області, одержані при скринінгу бібліотек FR (див., наприклад, Baca et al. *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684 (1997) і Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271: 22611-22618 (1996)).

У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменні антитіла є модифікованими, наприклад, гуманізованими, без зменшення нативної афінності домену до антигену і зі зниженням його імуногенності по відношенню до гетерологічних видів. Наприклад, можна визначити амінокислотні залишки варіабельного домену антитіла (V_HH) з антитіла лами, при цьому одна або декілька амінокислот представників сімейства верблужих, наприклад, в каркасних областях, замінюються їх людським аналогом, як було виявлено в консенсусній послідовності людини, без втрати цим поліпептидом своїх типових характеристик, тобто, гуманізація не робить суттєвого впливу на антигенз'язуючу здатність одержаного поліпептиду. Гуманізація однодоменних антитіл представників сімейства верблужих вимагає введення і мутагенезу обмеженої кількості амінокислот в одному поліпептидному ланцюзі. Це контрастує з гуманізацією scFv, Fab', (Fab')₂ і IgG, при якій потрібне введення амінокислотних змін в два ланцюги, легкий і важкий ланцюг, і збереження збірки обох ланцюгів.

Однодоменні антитіла, що містять домен V_HH, можуть бути гуманізовані з метою одержання людиноподібних послідовностей. У деяких варіантах здійснення даного винаходу FR області домену V_HH, описані в даному документі, містять щонайменше приблизно 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % або більше гомологій амінокислотної послідовності з каркасними областями V_H людини. Один типовий клас гуманізованих доменів V_HH характеризується тим, що V_HH несуть амінокислоту з групи, що складається з гліцину, аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, проліну, фенілаланіну, тирозину, триптофану, метіоніну, серину, треоніну, аспарагіну або глутаміну в положенні 45, такого як, наприклад, L45 і триптофану в положенні 103, згідно з нумерацією Kabat. Як такі, поліпептиди, що відносяться до цього класу, характеризуються високою гомологією амінокислотної послідовності з каркасними областями V_H людини, при цьому зазначені поліпептиди можна вводити людині безпосередньо без ймовірності розвитку небажаної імунної реакції на поліпептид і без навантаження подальшої гуманізації.

Інший типовий клас гуманізованих однодоменних верблужих антитіл описаний в WO 03/035694 і містить гідрофобні залишки FR2, які, як правило, зустрічаються в звичайних антитілах людського походження або антитілах інших видів, при цьому втрата гідрофільності компенсується зарядженням залишком аргініну в положенні 103, який замінює консервативний залишок триптофану, присутній в V_H з дволанцюгових антитіл. Як такі, пептиди, що відносяться до цих двох класів, характеризуються високою гомологією амінокислотної послідовності з каркасними областями V_H людини, при цьому зазначені пептиди можна вводити людині безпосередньо без ймовірності розвитку небажаної імунної реакції на пептид і без навантаження подальшої гуманізації.

4. Людські антитіла

У деяких варіантах здійснення даного винаходу запропоноване в даному документі антитіло є антитілом людини. Антитіла людини можуть бути одержані за допомогою різних методик, відомих в даній галузі техніки. Антитіла людини описані в загальних рисах у van Dijk та van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) і Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20: 450-459 (2008). У даній галузі техніки відомі трансгенні миші або щури, здатні продукувати повністю людські однодоменні антитіла. Див., наприклад, US20090307787A1, в патенті США № 8754287,

US20150289489A1, US20100122358A1 і WO2004049794.

Антитіла людини можна одержати шляхом введення імуногену трансгенних тварин, модифікованому з метою надання йому можливості продукувати інтактні антитіла або інтактні антитіла, що містять варіабельні області людини, у відповідь на введення антигену. Такі тварини зазвичай містять всі або частину локусів імуноглобулінів людини, які замінюють ендогенні локуси імуноглобулінів, або які наявні поза хромосомами, або інтегруються випадковим чином в хромосоми тварини. У таких трансгенних мишей ендогенні локуси імуноглобулінів зазвичай інактивують. Огляд способів одержання антитіл людини з використанням трансгенних тварин можна див. В Lonberg, *Nat. Biotech.* 23: 1117-1125 (2005). Див. також, наприклад, в патентах США №№ 6075181 і 6150584, в яких описана методика XENOMOUSE™; в патенті США № 5770429, в якому описана методика HUMAB®; в патенті США № 7041870, в якому описана методика K-M MOUSE®, і в публікації патентної заявки США № US 2007/0061900, в якій описана методика VELOCIMOUSE®. Варіабельні області людини з інтактних антитіл, що генеруються такими тваринами, можна додатково модифікувати, наприклад, шляхом об'єднання з іншою константною областю людини.

Антитіла людини також можна одержати за допомогою гібридомних способів. Описано людські мієломні і мишачо-людські гетеромієломні клітинні лінії, які застосовуються для одержання людських моноклональних антитіл. (Див., наприклад, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); і Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).) Антитіла людини, одержані за допомогою технології на основі В-клітинної гібридоми людини, також описані в Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 3557-3562 (2006). Додаткові способи включають в себе описані, наприклад, в патенті США № 7189826 (в якому описано одержання моноклональних людських антитіл IgM з гібридомних клітинних ліній) і в публікації Ni, Xiandai *Mianyixue*, 26 (4): 265-268 (2006) (в якій описані повністю людські гібридоми). Методика людських гібридом (методика Trioma) також описана в Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20 (3): 927-937 (2005), а також в Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27 (3): 185-91 (2005).

Антитіла людини також можна одержати шляхом виділення Fv-клону послідовностей варіабельного домену, вибраних з бібліотек фагового дисплея людського походження. Такі послідовності варіабельного домену можна потім об'єднати з бажаним константним доменом людини. Методики відбору антитіл людини з бібліотек антитіл описані нижче.

Одна методика для одержання послідовностей V_HH, спрямованих проти конкретного антигену або мішені, включає в себе відповідну імунізацію трансгенного ссавця, здатного експресувати антитіла з важким ланцюгом (тобто, з метою посилення імунної відповіді і/або антитіла з важким ланцюгом, спрямованих проти зазначеного антигену або мішені), одержання придатного біологічного зразка від зазначеного трансгенного ссавця, який містить (кодуючі нуклеотидні послідовності) зазначені послідовності V_HH (такі як зразок крові, зразок сироватки або зразок В-клітин), з подальшою генерацією послідовностей V_HH, спрямованих проти зазначеного антигену або мішені, починаючи з зазначеного зразка, із застосуванням будь-якого придатного способу, по суті відомого в даній галузі техніки (такого як будь-який з описаних в даному документі способів або методика гібридоми). Наприклад, для цієї мети можна використовувати мишей, що експресують антитіла з важким ланцюгом, та інші способи і методики, які описані в WO 02/085945, WO 04/049794 і WO 06/008548 та Janssens et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006 Oct. 10; 103 (41): 15130-5. Наприклад, миші, що експресують антитіла з важким ланцюгом, можуть експресувати антитіла з важким ланцюгом з будь-яким придатним (одиначним) варіабельним доменом, таким як (одиначні) варіабельні домени з природних джерел (наприклад, (одиначні) варіабельні домени людини, (одиначні) варіабельні домени представників сімейства верблюжих або (одиначні) варіабельні домени акули, а також, наприклад, синтетичні або напівсинтетичні (одиначні) варіабельні домени.

5. Антитіла, одержані з бібліотек

Антитіла за даним винаходом можна виділити шляхом скринінгу комбінаторних бібліотек на предмет антитіл, що володіють бажаною активністю або бажаними активностями. Наприклад, в даній галузі техніки відомі різні способи для створення бібліотек фагового дисплея і скринінгу таких бібліотек на антитіла, що володіють бажаними характеристиками зв'язування. Такі способи охарактеризовані, наприклад, в публікації Hoogenboom et al. в *Methods in Molecular Biology* 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) і додатково описані, наприклад, в публікації McCafferty et al., *Nature* 348: 552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, в *Methods in Molecular Biology* 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338 (2):

299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340 (5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34): 12467-12472 (2004); Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284 (1-2): 119-132 (2004). Способи конструювання бібліотек однодоменних антитіл описані, наприклад, в патенті США № 7371849.

5 У деяких способах фагових дисплеїв репертуари генів V_H та V_L окремо клонують за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і рекомбінують випадковим чином в фагових бібліотеках, які потім можна піддати скринінгу на антигензв'язуючі фаги, як описано в Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994). Як правило, фаг відображає фрагменти антитіл або у вигляді одноланцюгових фрагментів Fv (scFv), або у вигляді фрагментів Fab. Бібліотеки, одержані з імунованих джерел, містять антитіла, що володіють високою афінністю до імуногену, отже, необхідність конструювання гібридом відпадає. В альтернативному варіанті, можна клонувати наївний репертуар (наприклад, людини) для одержання єдиного джерела антитіл до широкого спектру чужорідних антигенів, а також аутоантигенів без імунізації, як описано в публікації Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993). Нарешті, наївні бібліотеки можна також одержати шляхом синтезу, клонуючи сегменти V-генів стовбурових клітин, які не піддавалися реаранжуванню, і застосовуючи ПЛР-праймери, що містять випадкові послідовності, для кодування гіперваріабельної області CDR3 і здійснення реаранжування *in vitro*, як описано в публікації Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992). Патентні публікації, в яких описані фаги бібліотеки антитіл людини включають в себе, наприклад, патент США № 5750373 і патентні публікації США №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 і 2009/0002360.

Антитіла або фрагменти антитіл, виділені з бібліотек антитіл людини, в даному документі вважаються антитілами людини або фрагментами антитіл людини.

6. Мультиспецифічні антитіла

25 У деяких варіантах здійснення даного винаходу запропоноване в даному документі антитіло є мультиспецифічним антитілом, наприклад, біспецифічним антитілом. Мультиспецифічні антитіла є моноклональними антитілами, які містять щонайменше дві різних ділянки специфічного зв'язування. У деяких варіантах здійснення даного винаходу одна зі специфічностей зв'язування є антигеном, вибраним з групи, що складається з CD19, CD20, BCMA і CD38, а інша – є будь-яким іншим антигеном. У деяких варіантах здійснення даного винаходу біспецифічні антитіла можуть зв'язуватися з двома різними епітопами антигену, вибраного з групи, що складається з CD19, CD20, BCMA і CD38. Біспецифічні антитіла також можна застосовувати для локалізації цитотоксичних агентів в області клітин, які експресують антиген, вибраний з групи, що складається з CD19, CD20, BCMA і CD38.

35 Біспецифічні антитіла можна одержати у вигляді повнорозмірних антитіл або у вигляді фрагментів антитіл. Способи одержання мультиспецифічних антитіл включають в себе, але не обмежуються ними, рекомбінантну спільну експресію двох пар важких ланцюг-легкий ланцюг імуноглобуліну з різною специфічністю (див. Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829 та Trauneker et al., *EMBO J.* 10: 3655, 1991), і інженерію згідно з принципом "виступ-у-западину" (див., наприклад, патент № 5731168). Мультиспецифічні антитіла також можна одержати шляхом конструювання електростатичних напрямних ефектів для створення Fc-гетеродимерних молекул антитіл (WO 2009/089004A1); перехресного зшивання двох або більшої кількості антитіл або фрагментів (див., наприклад, патент США № 4676980 і Brennan et al., *Science*, 229: 81, 1985); використання лейцінових "бліскавок" для одержання біспецифічних антитіл (див., наприклад, Kostelny et al., *J. Immunol.* 148 (5), 1547-1553 (1992)); застосування технології "діатіл" для виготовлення біспецифічних фрагментів антитіл (див., наприклад, Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993)); і застосування одноланцюгових Fv- (sFv-) димерів (див., наприклад, Gruber et al., *J. Immunol.*, 152: 5368 (1994)); і одержання триспецифічних антитіл, як описано, наприклад, в публікації Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991); і створення поліпептидів, що містять тандемні однодоменні антитіла (див., наприклад, заявку на патент № 20110028695; and Conrath et al. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276 (10): 7346-50). В даний документ також включено конструювання антитіл з трьома або більшою кількістю функціональних антигензв'язуючих ділянок, включаючи "антитіла-восьминоги" (див., наприклад, US 2006/0025576A1).

7. Варіанти антитіл

55 У деяких варіантах здійснення даного винаходу розглядаються варіанти амінокислотних послідовностей антитіл, запропонованих в даному документі. Наприклад, може бути бажаним поліпшення афінності та/або інших біологічних властивостей антитіла. Варіанти амінокислотних послідовностей антитіл можна одержати шляхом введення відповідних модифікацій в послідовність нуклеїнових кислот, яка кодує антитіло, або шляхом пептидного синтезу. Такі

модифікації містять, наприклад, делеції і/або вставки і/або заміни залишків в амінокислотних послідовностях антитіла. Для одержання кінцевого конструкту можна внести будь-яку комбінацію делецій, вставок і замін за умови, що кінцевий конструкт володіє бажаними характеристиками, наприклад, зв'язуванням з антигеном.

5 а) Варіанти замін, вставок і делецій

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонуються варіанти антитіл, що містять одну або декілька амінокислотних замін. Ділянки, що представляють інтерес з точки зору замісного мутагенезу, включають в себе HVR і FR. Консервативні заміни наведені в Таблиці 3 під заголовком "переважні заміни". Більш суттєві зміни наведені в Таблиці 3 під заголовком "10 типові заміни" і детально описані нижче по відношенню до класів бічного ланцюга амінокислот. В антитіло, яке представляє інтерес, можна ввести амінокислотні заміни і досліджувати продукти за допомогою скринінгу на предмет бажаної активності, наприклад, збереження/поліпшення здатності зв'язувати антиген, зниження імуногенності або поліпшення ADCC або CDC.

15

Таблиця 3

Амінокислотні заміни

Початковий залишок	Типові заміни	Переважні заміни
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Амінокислоти можна згрупувати за загальними властивостями бічного ланцюга:

- 20 (1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
 (2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
 (3) кислотні: Asp, Glu;
 (4) основні: His, Lys, Arg;
 (5) залишки, що впливають на орієнтацію ланцюга: Gly, Pro;
 (6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

25 Неконсервативні заміни призводять до заміни представника одного з цих класів на представника іншого класу.

30 Один тип варіантів, одержаних шляхом заміни, включає заміну одного або більшої кількості залишків гіперваріабельної області батьківського антитіла (наприклад, гуманізовані антитіла або антитіла людини). Як правило, одержаний(и) варіант(и), відібраний(и) для подальшого дослідження, характеризуються модифікаціями (наприклад, поліпшенням) певних біологічних властивостей (наприклад, підвищеною афінністю, зниженою імуногенністю) в порівнянні з батьківським антитілом і/або в значній мірі зберігає певні біологічні властивості батьківського антитіла. Типовий варіант, що одержується шляхом заміни, є антитілом з дозрілою афінністю, яке легко одержати, наприклад, за допомогою методик дозрівання афінності на основі фагового дисплея, наприклад, описаних в даному документі. Якщо коротко, один або більшу кількість

залишків HVR мутують і варіантні антитіла піддають фаговому дисплею і скринінгу на предмет конкретної біологічної активності (наприклад, афінності зв'язування).

Модифікації (наприклад, заміни) можна внести в HVR, наприклад, для поліпшення афінності антитіла. Такі модифікації можна внести в "гарячі точки" HVR, тобто, залишки, що кодуються кодонами, які в процесі соматичного дозрівання піддаються мутаціям з високою частотою (див., наприклад, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207: 179-196 (2008)), та/або SDR (а-CDR), з тестуванням афінності зв'язування одержаного варіанту V_H або V_L. Афінність дозрівання шляхом конструювання і повторного вибору з вторинних бібліотек описана, наприклад, в Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).) У деяких варіантах здійснення дозрівання афінності вносять різноманітність в варіабельні гени, вибрані для дозрівання за допомогою одного з ряду способів (наприклад, ПЛР зниженою точністю, перетасування ланцюгів або олігонуклеотид-спрямованого мутагенезу). Потім створюють вторинну бібліотеку. Після цього бібліотеку піддають скринінгу для виявлення варіантів антитіла з бажаною афінністю. Ще один спосіб внесення різноманітності включає HVR-спрямовані підходи, в яких рандомізують декілька залишків HVR (наприклад, 4-6 залишків одночасно). Залишки HVR, які беруть участь у зв'язуванні антигену, можна специфічно визначити, наприклад, за допомогою мутагенезу з аланіновим скануванням або моделюванням. При цьому мішенями часто є CDR-H3 і CDR-L3.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу заміни, вставки або делеції можуть виникати в одній або більшій кількості HVR за умови, що такі модифікації по суті не знижують здатність антитіла до зв'язування антигену. Наприклад, в HVR можна ввести консервативні модифікації (наприклад, консервативні заміни, як запропоновано в даному документі), які по суті не знижують афінність. Такі модифікації можуть розташовуватися за межами "гарячих точок" HVR або SDR. У деяких варіантах здійснення варіантних послідовностей V_HH, наведених вище, кожна HVR є або не зміненою, або містить не більше однієї, двох або трьох амінокислотних заміни.

Придатний спосіб виявлення залишків або областей антитіла, які можуть бути мішенями для мутагенезу, називається "мутагенезом з аланіновим скануванням", як описано Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244: 1081-1085. В даному способі виявляють залишок або групу залишків-мішеней (наприклад, заряджених залишків, таких як Arg, Asp, His, Lys і Glu) і заміщають їх нейтральними або негативно зарядженими амінокислотами (наприклад, аланіном або поліаланіном) з метою визначити, чи впливає це на взаємодію антитіла з антигеном. У амінокислотні положення, які характеризуються функціональною чутливістю до початкових заміни, можна вводити додаткові заміни. В альтернативному або додатковому варіанті для виявлення точок контакту між антитілом і антигеном використовують кристалічну структуру комплексу антиген-антитіло. Такі контактні або сусідні з ними залишки можна застосовувати як мішені для заміни, або вони можуть не розглядатися як кандидати для заміни. Варіанти можна піддати скринінгу, щоб визначити, чи володіють вони бажаними властивостями.

Вставки в амінокислотну послідовність включають в себе N- і/або C-кінцеві злиття довжиною від одного залишку до поліпептидів, що містять сто або більше залишків, а також вставки одного або множини амінокислотних залишків всередині послідовності. Приклади кінцевих вставок включають в себе антитіло з N-кінцевим метіонільним залишком. Інші вставні варіанти молекули антитіла включають в себе злиття N- або C-кінця антитіла з ферментом (наприклад, для ADEPT) або поліпептидом, що збільшує період напіввиведення антитіла в сироватці.

b) Варіанти глікозилювання

У деяких варіантах здійснення даного винаходу запропоноване в даному документі антитіло модифікують з метою збільшення або зменшення ступеня глікозилювання антитіла. Додавання або видалення ділянок глікозилювання в антитіло може бути з легкістю здійснено шляхом зміни амінокислотної послідовності, в результаті чого створюється або видаляється одна або більша кількість ділянок глікозилювання.

Якщо антитіло містить Fc-область, можна змінити приєднаний до неї вуглевод. Нативні антитіла, які продукуються клітинами ссавців, як правило, містять розгалужений двухантенарний олігосахарид, зазвичай приєднаний за допомогою N-зв'язку до Asn297 в CH2-доміні Fc-області. (Див., наприклад, Wright et al. *TIBTECH* 15: 26-32 (1997). Зазначений олігосахарид може містити різні вуглеводи, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу і сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc в "стеблі" двухантенарної олігосахаридної структури. у деяких варіантах здійснення даного винаходу можна виконати модифікації олігосахариду в антитілі згідно з винаходом з метою створення варіантів антитіл з визначеними покращеними властивостями.

В одному варіанті здійснення даного винаходу пропонуються варіанти антитіл, що містять

вуглеводну структуру з недостатньою кількістю фукози, приєднаної (безпосередньо чи опосередковано) до Fc-області. Наприклад, кількість фукози в такому антитілі може становити від 1 % до 80 %, від 1 % до 65 %, від 5 % до 65 % або від 20 % до 40 %. Кількість фукози визначають шляхом розрахунку середньої кількості фукози у вуглеводному ланцюзі при Asn297 по відношенню до суми всіх вуглеводних структур, приєднаних до Asn 297 (наприклад, складних гібридних структур з високим вмістом манози), виміряного за допомогою MALDI-TOF-мас-спектрометрії, як описано, наприклад, у WO 2008/077546. Asn297 відноситься до залишку аспарагіну, розташованому приблизно в положенні 297 в Fc-області (EU-нумерація залишків Fc-області); проте Asn297 також може розташовуватися на відстані приблизно ± 3 амінокислоти вище або нижче положення 297, тобто між положеннями 294 і 300, через незначну мінливість послідовності антитілу. Такі варіанти фукозилування можуть володіти поліпшеною ADCC-функцією. Див., наприклад, патентні публікації США №№ US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Приклади публікацій, які стосуються "дефукозилування" або "фукозодефіцитних" варіантів антитілу, включають в себе: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Приклади клітинних ліній, які здатні продукувати дефукозилувані антитілу, включають в себе клітини Lec13 CHO, дефектні з фукозилування білка (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545 (1986); заявка на патент США № 533-545, 1986; US 2003/0157108 і WO 2004/056312 A1, Adams et al., особливо Приклад 11), і клітинні лінії з нокаутом, такі як клітини CHO з нокаутом гену альфа-1,6-фукозилтрансферази FUT8 (див., наприклад, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94 (4): 680-688 (2006); і WO2003/085107).

Крім того, пропонуються варіанти антитілу з олігосахаридами, розділеними навпіл, наприклад, в яких двухантенарний олігосахарид, приєднаний до Fc-області антитілу, розділений по GlcNAc. Такі варіанти антитілу можуть характеризуватися зниженими фукозилуванням і/або поліпшеною ADCC-функцією. Приклади таких варіантів антитілу описані, наприклад, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); Патент США № 6602684 (Umana et al.); і US 2005/0123546 (Umana et al.). Крім того, запропоновані варіанти антитілу, що містять щонайменше один залишок галактози в складі олігосахариду, приєднаного до Fc-області. Такі варіанти антитілу можуть володіти поліпшеною CDC-функцією. Такі варіанти антитілу описані, наприклад, у WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); і WO 1999/22764 (Raju, S.).

35 c) Варіанти Fc-області

У деяких варіантах здійснення даного винаходу в Fc-область антитілу, запропонованого в даному документі, можна ввести одну або декілька амінокислотних модифікацій, тим самим одержуючи варіант Fc-області. Варіант Fc-області може містити послідовність Fc-області людини (наприклад, Fc-області IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини), що містить амінокислотну модифікацію (наприклад, заміну) в одному або більшій кількості амінокислотних положень.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу розглядається варіант антитілу, що володіє деякими, але не всіма ефекторними функціями, що робить його бажаним кандидатом для варіантів застосування, при яких важливий період напіввиведення антитілу *in vivo*, а деякі ефекторні функції (наприклад, комплемент і ADCC) не потрібні або шкідливі. Для підтвердження зниження/ослаблення CDC- і/або ADCC-активності можна виконати аналіз цитотоксичності *in vitro* і/або *in vivo*. Наприклад, щоб переконатися у відсутності зв'язування антитілу з Fc γ R (і, отже, у відсутності ADCC-активності) при збереженні здатності зв'язування з FcRn можна виконати аналіз зв'язування Fc-рецептора (FcR). Основні клітини, що опосередковують ADCC, NK-клітини, експресують тільки Fc(RIII, в той час як моноцити експресують Fc(RI, Fc(RII і Fc(RIII. Коротка інформація про експресії FcR на гемопоетичних клітинах наведена в Таблиці 3 на сторінці 464 публікації Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991). Обмежуючі приклади аналізу *in vitro* для оцінки ADCC-активності молекули, що представляє інтерес, описані в патенті США № 5500362 (див., наприклад, Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986)) і Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); 5,821,337 (див. Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361 (1987)). В альтернативному варіанті можна використовувати аналізи, не пов'язані з використанням радіоактивних речовин (див., наприклад, аналіз цитотоксичності АСТІ™ для проточної цитометрії без використання радіоактивних речовин (CellTechnology, Inc. Маунтін-В'ю, Каліфорнія, і аналіз цитотоксичності CytoTox 96® без використання радіоактивних речовин (Promega, Медісон, Вісконсін). Як ефекторні клітини в таких аналізах можна застосовувати мононуклеарні клітини периферичної

крові (МКПК) і клітини-натуральні кілери (NK). в альтернативному або додатковому варіанті ADCC-активність молекули, що представляє інтерес, можна оцінити *in vivo*, наприклад, на моделі тварини, такої як описано в публікації Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95: 652-656 (1998). Щоб підтвердити, що антитіло не здатне зв'язувати C1q і, отже, не володіє CDC-активністю, можна провести аналізи зв'язування C1q. (Див., наприклад, аналіз зв'язування C1q і C3c методом ELISA в WO 2006/029879 і WO 2005/100402. Для оцінки активації комплементу можна виконати аналіз CDC (див., наприклад, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101: 1045-1052 (2003); і Cragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103: 2738-2743 (2004)). Крім того, можна визначити зв'язування і виведення/період напіввиведення FcRn *in vivo* за допомогою способів, відомих в даній галузі техніки (див., наприклад, Petkova, SB et al., Int'l. Immunol. 18 (12): 1759-1769 (2006)).

Антитіла зі зниженою ефекторною функцією включають в себе антитіла з заміною одного або більшої кількості із залишків 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 Fc-області (патент США № 6737056). Такі мутанти Fc включають в себе мутанти Fc з замінами в двох або більшій кількості амінокислотних положень 265, 269, 270, 297 і 327, включаючи так звані мутанти Fc "DANA" з заміною залишків 265 і 297 на аланін (патент США № 7332581).

Описано деякі варіанти антитіл з поліпшеним або зменшеним зв'язуванням з FcR. (Див., наприклад, в № 6737056; WO 2004/056312, і Shields et al., J. Biol. Chem. 9 (2): 6591-6604 (2001).)

У деяких варіантах здійснення даного винаходу варіант антитіла містить Fc-область з однієї або великою кількістю амінокислотних замін, які покращують ADCC (антитілозалежну клітинно-зумовлену цитотоксичність), наприклад, з замінами в положеннях 298, 333 і/або 334 Fc- області (EU-нумерація залишків).

У деяких варіантах здійснення даного винаходу вносять зміни в Fc-область, що призводить до зміни (тобто, поліпшення або зниження) зв'язування C1q і/або комплемент-залежної цитотоксичності (CDC), наприклад, як описано в патенті США № 6194551, WO 99/51642 та Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

Антитіла з підвищеним періодом напіврозпаду і поліпшеним зв'язуванням з неонатальним рецептором Fc (FcRn), який відповідає за перенесення материнських IgG плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) та Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994)), описані в US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Зазначені антитіла містять Fc-область з однієї або більшою кількістю замін, які покращують зв'язування Fc-області з FcRn. Такі варіанти Fc включають в себе ті, які мають заміни в одному або більшій кількості залишків Fc-області: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 або 434, наприклад, заміну залишку 434 Fc-області (патент США № 7371826).

Див. також Duncan & Winter, Nature 322: 738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821; та WO 94/29351 щодо інших прикладів варіантів Fc-області.

d) Варіанти антитіл, сконструйовані шляхом введення цистеїну

У деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути бажаним одержання антитіл, сконструйованих шляхом введення цистеїну, наприклад, "thioMAb", в яких один або більша кількість залишків антитіла замінені залишками цистеїну. У конкретних варіантах здійснення даного винаходу замінені залишки знаходяться в доступних ділянках антитіла. В результаті заміщення зазначених залишків цистеїном в доступних ділянках антитіла розташовуються реакційоздатні тиольні групи, які можна застосовувати для кон'югування антитіла з іншими фрагментами, такими як фрагменти лікарських засобів або фрагменти лінкер-лікарський засіб, з одержанням імунокон'югату, як описано далі в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу цистеїном можна замінити один або більшу кількість з наступних залишків: A118 (нумерація EU) важкого ланцюга і S400 (нумерація EU) Fc-області важкого ланцюга. Антитіла, сконструйовані шляхом введення цистеїну, можуть бути одержані, як описано, наприклад, в патенті США № 7521541.

e) Похідні антитіл

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло, запропоноване в даному документі, можна додатково модифікувати шляхом введення додаткових небілкових фрагментів, що відомі в даній галузі техніки і легко доступні. Фрагменти, які можна використовувати для дериватизації антитіла, включають в себе, але не обмежуються перерахованим, водорозчинні полімери. Обмежуючі приклади водорозчинних полімерів включають в себе поліетиленгліколь (ПЕГ), співполімери етиленгліколю та пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі-1,3-діоксолан, полі-1,3,6-триоксан, співполімер етилену/малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (гомополімери або випадкові співполімери) і декстран або полі(п-вінілпіролідон) поліетиленгліколь, гомополімери пропіленгліколю, співполімери пропіленоксиду/етиленоксиду,

поліоксиетильовані поліюли (наприклад, гліцерин), полівініловий спирт і їх суміші, але не обмежуються ними. Пропіоновий альдегід поліетиленгліколю може мати переваги при виробництві через його стабільність у воді. Полімер може мати будь-яку молекулярний вагу і може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Число полімерів, приєднаних до антитіла, може змінюватися, і, в разі приєднання більше одного полімеру, вони можуть являти собою однакові або різні молекули. Як правило, число і/або тип полімерів, що застосовуються для дериватизації, можна визначити з урахуванням факторів, що включають, але не обмежуються перерахованим, конкретні властивості або функції антитіла, що підлягають поліпшенню, незалежно від того, чи буде похідне антитіла застосовуватися в терапії при певних умовах, та ін.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонуються кон'югати антитіла з небілковим фрагментом, які можна вибірково нагрівати за допомогою опромінення. У деяких варіантах здійснення даного винаходу небілковий фрагмент є вуглецевою нанотрубкою (Kam et al., Proc. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Опромінення може бути здійснено хвилею будь-якої довжини, включаючи, але не обмежуючись перерахованим, довжини хвиль, які не приносять шкоди звичайним клітинам, але нагрівають небілковий фрагмент до температури, при якій клітини, що знаходяться по сусідству з небілковим фрагментом, гинуть.

Способи одержання

Антитіла (такі як однодоменні антитіла), описані в даному документі, можна одержати за допомогою будь-яких способів, відомих в даній галузі техніки, або як описано в даному документі.

Способи одержання однодоменних антитіл описані в літературі. Див., наприклад, Els Pardon et al, Nature Protocol, 2014; 9 (3): 674. однодоменні антитіла (такі як V_HH) можна одержати за допомогою способів, відомих в даній галузі техніки, наприклад, шляхом імунізації представників виду верблужих (наприклад, верблюда або лами) і одержання від них гібридом, або шляхом клонування бібліотеки однодоменних антитіл за допомогою методів молекулярної біології, відомих в даній галузі техніки, і подальшого відбору за допомогою ELISA з окремими клонами невідібраних бібліотек або із застосуванням фагового дисплея.

Для рекомбінантного продукування однодоменних антитіл нуклеїнові кислоти, що кодують однодоменні антитіла, виділяють і вставляють в реплікований вектор для подальшого клонування (ампліфікація ДНК) або для експресії. ДНК, що кодує однодоменне антитіло, можна легко виділити і секвенувати за допомогою традиційних способів (наприклад, із застосуванням олігонуклеотидних зондів, здатних специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкий і легкий ланцюг антитіла). Багато таких векторів є доступними. Вибір вектора частково залежить від клітини-господаря, яка буде застосовуватися. Як правило, переважні клітини-господарі мають або прокаріотичне, або еукаріотичне (як правило, від ссавців) походження.

1. Поліклональні антитіла

Як правило, рівень поліклональних антитіл підвищується у тварин в результаті множини підшкірних (п/к) або внутрішньочеревних (в/ч) ін'єкцій відповідного антигену і ад'юванту. Може бути корисним кон'югування відповідного антигену з білком, який є імуногенним для видів, що підлягають імунізації, наприклад, гемоцианіном фісурели (KLH), сироватковим альбуміном, бичачим тиреоглобуліном або інгібітором трипсину соєвих бобів із застосуванням біфункціонального або дериватизуючого агента, наприклад, малеїмідобензоїлсульфосукцинімідного ефіру (кон'югування через залишки цистеїну), N-гідроксисукциніміду (через залишки лізину), глутарового альдегіду, бурштинового ангідриду, SOCl₂, або R₁N=C=NR, де R і R₁ є незалежно нижчими алкільними групами. Приклади ад'ювантів, які можуть застосовуватися, включають в себе повний ад'ювант Фрейнда і ад'ювант MPL-TDM (монофосфорил ліпід А, синтетичний дикоріноміколат трегалози). Протокол імунізації може бути вибраний фахівцем в даній галузі техніки без зайвих експериментів.

Тварин імунізують проти антигену, імуногенних кон'югатів або похідних шляхом комбінування, наприклад, 100 мкг або 5 мкг білка або кон'югату (для кроликів або мишей відповідно) з 3 об'ємами повного ад'юванту Фрейнда, з подальшим ін'єкційним внутрішньошкірним введенням розчину в кілька ділянок. Через місяць тваринам вводять бустерну дозу, яка містить від 1/5 до 1/10 початкової кількості пептиду або кон'югату в повному ад'юванті Фрейнда шляхом підшкірної ін'єкції в кілька ділянок. Через сім-чотирнадцять днів у тварин беруть кров і аналізують сироватку на титр антитіл. Тваринам вводять бустерну дозу до досягнення фази плато для титру антитіл. Кон'югати також можна одержати в культурі рекомбінантних клітин у вигляді білкових сполук. Крім того, для посилення імунової відповіді придатні агрегуючі агенти, такі як алюмокалієві галуни.

2. Моноклональні антитіла

Моноклональні антитіла одержують з популяції по суті однорідних антитіл, тобто, з популяції, окремі антитіла в якій є ідентичними, за винятком можливих природних мутацій і/або посттрансляційних модифікацій (наприклад, ізомеризації, амідування), які можуть бути присутніми в незначних кількостях. Таким чином, модифікатор "моноклональне" вказує на те, що антитіло не є сумішшю окремих антитіл.

Наприклад, моноклональні антитіла можуть бути одержані за допомогою гібридомного методу, вперше описаного Kohler et al., *Nature*, 256: 495 (1975), або можуть бути одержані за допомогою методів рекомбінантних ДНК (див. в патенті США № 4816567).

При здійсненні гібридомного методу, мишу або іншу підходящу тварину-господаря, наприклад, хом'яка, імунізують, як описано вище, для виділення лімфоцитів, які продукують або здатні продукувати антитіла, які будуть специфічно зв'язувати білок, що використовується для імунізації. В альтернативному варіанті лімфоцити також можуть бути імунізовані *in vitro*. Потім лімфоцити з'єднують з клітинами мієломи із застосуванням придатного агента злиття, такого як поліетиленгліколь, з метою утворення гібридомної клітини (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)).

Імунізуючий агент зазвичай включає в себе антигенний білок або його варіант злиття. Як правило, якщо клітини людського походження є бажаними, застосовують лімфоцити периферичної крові ("ЛПК"), а якщо є бажаними джерела з ссавців, що не відносяться до людини, застосовують клітини селезінки або клітини лімфатичних вузлів. Потім лімфоцити сполучають з лінією іморталізованих клітин, із застосуванням придатного агента злиття, такого як поліетиленгліколь, з метою утворення гібридомної клітини. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103.

Як правило, лінії іморталізованих клітин є трансформованими клітинами ссавців, зокрема, мієломними клітинами гризунів, бика і людини. Як правило, застосовують лінії клітин мієломи щура або миші. Одержані таким чином гібридомні клітини висівають і вирощують в придатному культуральному середовищі, яке переважно містить одну або декілька речовин, які інгібують ріст або виживання незлитих батьківських клітин мієломи. Наприклад, якщо в батьківських клітинах мієломи відсутній фермент гіпоксантин гуанінфосфорибозилтрансферази (HGPRT або HPRT), культуральне середовище для гібридом зазвичай включатиме в себе гіпоксантин, аміноптерин і тимідин (середовище HAT), які є речовинами, що перешкоджають росту HGPRT - дефіцитних клітин.

Переважаючими іморталізованими клітинами мієломи є ті, які ефективно зливаються, підтримують стабільний високий рівень продукування антитіл вибраними клітинами, що продукують антитіла, і чутливі до середовища, такого як середовище HAT. Серед них переважними є лінії клітин мієломи миші, наприклад, лінії клітин, одержані з пухлин миші MOPC-21 і MPC-11, доступних у Центрі розподілу клітин Salk Institute, Сан-Дієго, штат Каліфорнія, США, і клітин SP-2 (і їх похідних, наприклад, X63-Ag8-653), доступних в Американській колекції типових культур, Манассас, штат Вірджинія, США. Також описані людські мієломні і мишачо-людські гетеромієломні клітинні лінії, які застосовуються для одержання моноклональних антитіл людини (Kozbor, *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

Культуральне середовище, в якому ростуть гібридомні клітини, аналізують на предмет продукування моноклональних антитіл, спрямованих проти антигену. Переважно специфічність зв'язування моноклональних антитіл, які продукуються гібридомними клітинами, визначають за допомогою імунопреципітації або аналізу зв'язування *in vitro*, такого як радіоімуноаналіз (RIA) або твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA).

Культуральне середовище, в якому культивуються гібридомні клітини, можна аналізувати на наявність моноклональних антитіл, спрямованих проти антигену, що представляє інтерес. Переважно афінність зв'язування і специфічність моноклонального антитіла можна визначити за допомогою імунопреципітації або аналізу зв'язування *in vitro*, такого як радіоімуноаналіз (RIA) або твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA). Такі методи і аналізи добре відомі в даній галузі техніки. Наприклад, афінність зв'язування можна визначити за допомогою аналізу Скетчарда, описаного Munson et al., *Anal. Biochem.*, 107: 220 (1980).

Після ідентифікації гібридомних клітин, які продукують антитіла бажаної специфічності, афінності і/або активності, клони можна субклонувати, застосовуючи процедури граничного розведення і вирощування за допомогою стандартних методів (Goding, вище). Придатні для цієї мети культуральні середовища включають в себе, наприклад, середовище D-MEM або середовище RPMI-1640. Крім того, гібридомні клітини можна вирощувати *in vivo* у вигляді пухлин у ссавців.

Моноклональні антитіла, що секретуються субклонами, відповідно відокремлюють від

культурального середовища, асцитної рідини або сироватки за допомогою звичайних процедур очищення імуноглобулінів, таких як, наприклад, білок А-сефароза, гідроксилапатитова хроматографія, гель-електрофорез, діаліз або афінна хроматографія.

Моноклональні антитіла також можна одержати за допомогою методів рекомбінантної ДНК, як описано в патенті США № 4816567, як описано вище. ДНК, що кодує моноклональні антитіла, можна легко виділити і секвенувати за допомогою традиційних способів (наприклад, із застосуванням олігонуклеотидних зондів, здатних специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкий і легкий ланцюг антитіл миші). Гібридомні клітини є добрим джерелом такої ДНК. Після виділення ДНК можна помістити в експресійні вектори, які потім трансфікують в клітини-господарі, такі як клітини *E. coli*, клітини COS мавп, клітини яєчника китайського хом'ячка (СНО) або клітини мієломи, які не виробляють білок імуноглобуліну іншим способом, для синтезу моноклональних антитіл в таких рекомбінантних клітинах-господарях. Оглядові статті про рекомбінантні експресії в бактеріях ДНК, що кодують антитіло, включають в себе Skerra et al., *Curr. Opin. in Immunol.*, 5: 256-262 (1993) і Plickthun, *Immunol. Revs.* 130: 151-188 (1992).

У додатковому варіанті здійснення даного винаходу антитіла можна виділити з фагових бібліотек антитіл, згенерованих за допомогою способів, описаних в публікації McCafferty et al., *Nature*, 348: 552-554 (1990). Clackson et al., *Nature*, 352: 624-628 (1991) і Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 22: 581-597 (1991) описують виділення антитіл миші і людини, відповідно, із застосуванням фагів бібліотек. У наступних публікаціях описано одержання антитіл людини з високою афінністю (діапазон K_m) шляхом перетасування ланцюгів (Marks et al., *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992)), а також комбінаторне інфікування і рекомбінація *in vivo* як стратегія побудови дуже великих фагових бібліотек (Waterhouse et al., *Nucl. Acids Res.*, 21: 2265-2266 (1993)). Таким чином, ці методи є ефективними альтернативами традиційним методам гібридами моноклональних антитіл для виділення моноклональних антитіл.

ДНК також можна модифікувати, наприклад, шляхом заміщення гомологічних послідовностей миші кодуючою послідовністю константних доменів важкого і легкого ланцюгів людини (див. В патенті США № 4816567; Morrison, et al., *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81: 6851 (1984)), або шляхом ковалентного сполучення з кодуючим імуноглобуліном всієї або частини кодуючої послідовності неімуноглобулінового поліпептиду. Як правило, такі неімуноглобулінові поліпептиди є заміщеними в константних доменах антитіла або є заміщеними в варіабельних доменах однієї антигензв'язуючої ділянки антитіла з метою створення химерного двовалентного антитіла, що містить одну антигензв'язуючу ділянку, яка має специфічність для антигену, та іншу антигензв'язуючу ділянку, яка має специфічність для іншого антигену.

Моноклональні антитіла, описані в даному документі, можуть бути одновалентними, одержання яких добре відомо в даній галузі техніки. Наприклад, один спосіб включає рекомбінантну експресію легкого ланцюга імуноглобуліну і модифікований важкий ланцюг. Як правило, важкий ланцюг усікається в будь-якій точці Fc-області, з метою запобігання зшивання важкого ланцюга. В альтернативних варіантах відповідні залишки цистеїну можуть бути заміщені іншими амінокислотними залишками або видалені з метою запобігання зшивання. Для одержання одновалентних антитіл також придатні способи *in vitro*. Розщеплення антитіл для одержання їх фрагментів, зокрема Fab-фрагментів, можна виконати за допомогою звичайних методів, відомих в даній галузі техніки.

Химерні або гібридні антитіла також можна одержати *in vitro* за допомогою відомих методів, що застосовуються в хімії синтетичних білків, включаючи сполуки, що містять зшиваючі агенти. Наприклад, імунотоксини можуть бути сконструйовані за допомогою реакції дисульфідного обміну або шляхом утворення тіоефірного зв'язку. Приклади придатних реагентів для цієї мети включають в себе імінотіолат і метил-4-меркаптобутірімідат.

3. Рекомбінантне продукування в прокаріотичних клітинах

а) Конструкція вектора

Послідовності полінуклеїнових кислот, які кодують антитіла за даним винаходом, можна одержати за допомогою стандартних рекомбінантних методів. Бажані послідовності полінуклеїнових кислот можна виділити і секвенувати з клітин, які продукують антитіла, таких як гібридомні клітини. В альтернативному варіанті полінуклеотиди можна синтезувати за допомогою синтезатора нуклеотидів або методів ПЛР. Після одержання послідовності, кодуючі поліпептиди вводять в рекомбінантний вектор, здатний реплікувати і експресувати гетерологічні полінуклеотиди в прокаріотичних господарів. Багато векторів, які доступні і відомі в даній галузі техніки, можна застосовувати для цілей даного винаходу. Вибір придатного вектора буде залежати в основному від розміру нуклеїнових кислот, які повинні бути вставлені в вектор, і конкретної клітини-господаря, яка повинна бути трансформована вектором. Кожен вектор містить різні компоненти, в залежності від його функції (ампліфікація або експресія

гетерологічного полінуклеотиду, або і те, і інше) і його сумісності з конкретною клітиною-господарем, в якій він знаходиться. Як правило, компоненти вектора включають в себе наступні елементи, але не обмежуються ними: джерело початку реплікації, ген маркера відбору, промотор, ділянку зв'язування рибосом (RBS), сигнальну послідовність, вставку з гетерологічною нуклеїновою кислотою і послідовність термінації транскрипції.

У більшості випадків плазмідні вектори, що містять реплікон і контрольні послідовності, які одержані з видів, сумісних з клітиною-хазяїном, застосовують відносно цих господарів. Вектор зазвичай несе ділянку реплікації, а також марковані послідовності, які здатні забезпечити фенотипічний відбір в трансформованих клітинах. Наприклад, *E. coli* зазвичай трансформують із застосуванням pBR322, плазмиди, одержаної з видів *E. coli*. pBR322 містить гени, що кодуєть стійкість до ампіциліну (Amp) і тетрацикліну (Tet) і, таким чином, забезпечує простий спосіб ідентифікації трансформованих клітин. pBR322, її похідні або інші мікробні плазмиди або бактеріофаг також можуть містити або бути модифікованими, щоб утримувати промотори, які можуть використовуватися мікробним організмом для експресії ендогенних білків. Приклади похідних pBR322, що застосовуються для експресії конкретних антитіл, докладно описані Carter et al., в патенті США № 5648237.

Крім того, вектори фагу, що містять реплікон і контрольні послідовності, які сумісні з мікроорганізмом-господарем, можуть застосовуватися як трансформуючі вектори відносно цих господарів. Наприклад, бактеріофаг, такий як GEM™-11, можна застосовувати при створенні рекомбінантного вектора, який може застосовуватися для трансформації сприйнятливих клітин-господарів, таких як *E. coli* LE392.

Експресуючий вектор згідно з винаходом може містити дві або більшу кількість пар "промотор-цистрон", що кодуєть кожен з поліпептидних компонентів. Промотор є нетрансльованою регуляторною послідовністю, розташованою проти ходу транскрипції (5') до цистрону, який модулює його експресію. Як правило, прокариотичні промотори зазвичай діляться на два класи, індуковані і конститутивні. Індукований промотор є промотором, який зумовлює підвищення рівнів транскрипції цистрону під своїм контролем у відповідь на зміни умов культивування, наприклад, наявності або відсутності поживної речовини або зміна температури.

Відома велика кількість промоторів, які розпізнаються різними потенційними клітинами-господарями. Вибраний промотор може бути функціонально зв'язаний з цистронною ДНК, яка кодує легкий або важкий ланцюг, шляхом видалення промотору з початкової ДНК за допомогою розщеплення рестрикційним ферментом і введенням виділеної промоторної послідовності у вектор за даним винаходом. Як нативну промоторну послідовність, так і множину гетерологічних промоторів можна застосовувати для прямої ампліфікації і/або експресії генів-мішеней. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовують гетерологічні промотори, оскільки вони, як правило, забезпечують більш високий рівень транскрипції і більшу кількість одержуваного експресованого гену-мішені в порівнянні з промотором нативного поліпептиду-мішені.

Промотори, придатні для застосування з прокариотичними господарями, включають в себе промотор PhoA, системи промоторів галактамази і лактози, систему промоторів триптофану (trp) і гібридні промотори, такі як промотор tac або trc. Однак придатні і інші промотори, які є функціональними в бактеріях (наприклад, інші відомі бактеріальні або фагові промотори). Їх послідовності нуклеїнових кислот опубліковані в літературі, що дозволяє кваліфікованому фахівцю оперативно лігувати їх з цистронами, які кодуєть цільові легкі і важкі ланцюги (Siebenlist et al. (1980) Cell 20: 269) за допомогою лінкерів або адаптерів для забезпечення будь-яких необхідних ділянок рестрикції.

В одному аспекті кожен цистрон в рекомбінантному векторі містить компонент сигнальної послідовності секреції, який спрямовує експресованих поліпептидів через мембрану. У більшості випадків сигнальна послідовність може бути компонентом вектора або може бути частиною ДНК поліпептиду-мішені, яка вводиться в вектор. Сигнальна послідовність, вибрана для цілей даного винаходу, повинна бути розпізнана і оброблена (тобто, розщеплена сигнальною пептидазою) клітиною-хазяїном. Для прокариотичних клітин-господарів, що не розпізнають і не обробляють сигнальні послідовності, нативні для гетерологічних поліпептидів, сигнальна послідовність заміщується прокариотичною сигнальною послідовністю, вибраною, наприклад, з групи, що складається з лужної фосфатази, пеніцилінази, lpp або лідерів термостабільного ентеротоксину II (STII), LamB, PhoE, PelB, OmpA і MBP. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальні послідовності, застосовувані в обох цистронах системи експресії, є сигнальними послідовностями STII або їх варіантами.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу продукування антитіл згідно з винаходом

може відбуватися в цитоплазмі клітини-господаря і, отже, не вимагає наявності сигнальних послідовностей секреції в кожному цистроні. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептидні компоненти, такі як поліпептид, що кодує домен V_N першої антигензв'язуючої частини, в деяких випадках зливаються з другою антигензв'язуючою частиною, і поліпептид, що кодує домен V_L першої антигензв'язуючої частини, в деяких випадках зливаються з другою антигензв'язуючою частиною, експресують, надають їм складчасту структуру і збирають, тим самим одержуючи функціональні антитіла в цитоплазмі. Визначені штами господаря (наприклад, штами *E. coli* trxB-) забезпечують стан цитоплазми, який є сприятливим для утворення дисульфідних зв'язків, що дозволяє правильно надавати складчасту структуру і збирати експресовані білкові субодиниці. Proba and Pluckthun Gene, 159: 203 (1995).

У даному винаході пропонується система експресії, в якій кількісне співвідношення експресованих поліпептидних компонентів може модулюватися, щоб максимізувати кількість одержуваного секретованого і правильно зібраного антитіла за даним винаходом. Таке модулювання виконується щонайменше частково шляхом одночасного модулювання сили трансляції для поліпептидних компонентів. Один спосіб модулювання сили трансляції описаний в Simmons et al., в патенті США № 5840523. У зазначеному способі застосовуються варіанти області ініціації трансляції (TIR) в цистроні. Для даної TIR може бути створена серія варіантів послідовності амінокислот або нуклеїнових кислот з діапазоном значень сили трансляції, що забезпечує простий спосіб корекції цього фактора для бажаного рівня експресії конкретного ланцюга. Варіанти TIR можуть бути одержані за допомогою звичайних методів мутагенезу, що призводить до змін кодонів, які можуть змінювати амінокислотну послідовність, хоча перевагу надають мовчазні зміни в послідовності нуклеїнових кислот. Зміни в TIR можуть включати в себе, наприклад, зміни в кількості та відстані між послідовностями Shine-Dalgarno поряд зі змінами в сигнальній послідовності. Одним із способів генерації мутантних сигнальних послідовностей є створення "банку кодонів" на початку кодуєчої послідовності, який не змінює амінокислотну послідовність сигнальної послідовності (тобто, зміни є мовчазні). Це може бути досягнуто шляхом зміни третього нуклеотидного положення кожного кодону; крім того, деякі амінокислоти, такі як лейцин, серин і аргінін, мають декілька перших і других положень, які можуть ускладнити процес створення банку. Цей спосіб мутагенезу докладно описаний в публікації Yansura et al. (1992) METHODS: A Companion to Methods in Enzymol. 4: 151-158.

Переважно, набір векторів генерується з діапазоном значень сили TIR для кожного цистрону в ній. Цей обмежений набір забезпечує порівняння рівнів експресії кожного ланцюга, а також кількість бажаних білкових продуктів при різних комбінаціях значень сили TIR. Значення сили TIR можна проаналізувати шляхом кількісного визначення рівня експресії репортерного гену, як описано детально в Simmons et al. в патенті США № 5840523. На підставі порівняння сили трансляції бажані індивідуальні TIR вибирають для об'єднання в конструкціях експресійного вектора з даного винаходу.

b) Прокаріотичні клітини-господарі.

Прокаріотичні клітини-господарі, придатні для експресії антитіла за даним винаходом, включають в себе архабактерії і еубактерії, такі як грамнегативні або грампозитивні організми. Приклади придатних бактерій включають в себе *Escherichia* (наприклад, *E. coli*), *Bacilli* (наприклад, *B. subtilis*), *Enterobacteria*, види *Pseudomonas* (наприклад, *P. aeruginosa*), *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescans*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella*, *Rhizobia*, *Vitreoscilla* або *Paracoccus*. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовують грамнегативні клітини. В одному варіанті здійснення даного винаходу клітини *E. coli* застосовують як господарі для даного винаходу. Приклади штамів *E. coli* включають в себе штам W3110 (Bachmann, Cellular and Molecular Biology, vol. 2 (Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219; ATCC Deposit No. 27,325) і його похідні, включаючи штам 33D3, що має генотип W3110 AfhuA (AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompT A (nmpc-fepE) degP41 kan^R (див. В патенті США № 5639635). Також є придатними інші штами та їх похідні, такі як *E. coli* 294 (ATCC 31,446), *E. coli* B, *E. coli* 1 776 (ATCC 31,537) і *E. coli* RV308 (ATCC 31,608). Ці приклади носять скоріше ілюстративний, ніж обмежувачий характер. Способи конструювання похідних будь-яких з вищезазначених бактерій, що мають визначені генотипи, відомі в даній галузі техніки і описані, наприклад, в публікації Bass et al., Proteins, 8: 309-314 (1990). Як правило, необхідно вибирати відповідні бактерії з урахуванням відтворюваності реплікону в клітинах бактерії. Наприклад, види *E. coli*, *Serratia* або *Salmonella* можна відповідним чином застосовувати як клітини-господарі, коли для доставки реплікону застосовують добре відомі плазміди, такі як pBR322, pBR325, pACYC177 або pKN410.

Як правило, клітина-господар повинна виділяти мінімальні кількості протеолітичних ферментів, при цьому в клітинну культуру можуть бути бажано включені додаткові інгібітори

протеази.

с) Продукція білків

Клітини-господарі трансформують за допомогою вищеописаних експресійних векторів і культивують в звичайних поживних середовищах, модифікованих, якщо необхідно, для індукції промоторів, відбору трансформантів або ампліфікації генів, що кодуєть бажані послідовності. Трансформація означає введення ДНК в клітини прокаріотів-господаря, для того, щоб ДНК була реплікована або як поза хромосомний елемент, або за допомогою хромосомного інтегратора. В залежності від застосовуваної клітини-господаря трансформація виконується за допомогою стандартних методів, придатних для таких клітин. Обробку кальцієм із застосуванням хлориду кальцію, як правило, проводять для бактеріальних клітин, які містять суттєві бар'єри клітинної стінки. В іншому способі трансформації застосовують поліетиленгліколь/ДМСО. Ще одним застосовуваним способом є електропорація.

Прокаріотичні клітини, що застосовуються для одержання антитіл за даним винаходом, вирощують в середовищах, відомих в даній галузі техніки і придатних для культивування вибраних клітин-господарів. Приклади придатних середовищ включають в себе бульйон Лурія (LB) плюс необхідні поживні добавки. У деяких варіантах здійснення даного винаходу середовище також містить селективний агент, вибраний на основі конструкції експресійного вектора, для вибіркового забезпечення росту прокаріотів клітин, що містять експресійний вектор. Наприклад, ампіцилін додають в середовище для росту клітин, які експресують ген резистентності до ампіциліну.

Будь-які необхідні добавки, крім джерел вуглецю, азоту і неорганічних фосфатів, також можуть бути включені до відповідних концентрацій, введені окремо або у вигляді суміші з іншою добавкою або середовищем, наприклад, комплексне джерело азоту. У деяких випадках культуральне середовище може містити один або більшу кількість відновлюють агентів, вибраних з групи, що складається з глутатіону, цистеїну, цистаміну, тіогліколяту, дитіоеритриту і дитіотреїтолу.

Прокаріотичні клітини-господарі культивують при відповідних температурах. Для росту *E. coli*, наприклад, переважна температура коливається від приблизно 20 °C до приблизно 39 °C, більш переважно від приблизно 25 °C до приблизно 37 °C, ще більш переважно становить приблизно 30 °C. Показник рН середовища може бути будь-яким показником рН в межах від приблизно 5 до приблизно 9, в залежності, головним чином, від організму-господаря. Для *E. coli*, рН переважно становить від приблизно 6,8 до приблизно 7,4, а більш переважно – приблизно 7,0.

Якщо індукований промотор застосовується в експресійному векторі за даним винаходом, експресія білка активується в умовах, придатних для активації промотору. В одному аспекті даного винаходу PhoA-промотори застосовують для контролю транскрипції поліпептидів. Відповідно, трансформовані клітини-господарі культивують в фосфатно-обмежуючому середовищі для індукції. Переважно, фосфатно-фосфатно-обмежуюче середовище є середовищем C.R.A.P (див., наприклад, Simmons et al., J. Immunol. Methods (2002), 263: 133-147). Як відомо в даній галузі техніки, згідно із застосовуваною векторною конструкцією можна застосовувати безліч інших індукторів.

Експресовані антитіла за даним винаходом секретуються в периплазму клітин-господарів і витягуються з неї. Витягування білка зазвичай передбачає руйнування мікроорганізму, як правило, за допомогою таких способів, як осмотичний шок, обробка ультразвуком або лізис. Відразу після руйнування клітин клітинний дебрис або цілі клітини можна одержати за допомогою центрифугування або фільтрації. Білки можна додатково очистити, наприклад, за допомогою афінної хроматографії зі смолою. В альтернативному варіанті білки можна переносити в культуральне середовище і виділяти з нього. Клітини можна видаляти з культури, а супернатант культури – фільтрувати і концентрувати для подальшого очищення одержаних білків. Експресовані поліпептиди можна додатково виділити та ідентифікувати за допомогою загальновідомих способів, таких як електрофорез в поліакриламідному гелі (PAGE) і вестерн-блот аналіз.

В альтернативному варіанті білки продукують у великій кількості за допомогою процесу ферментації. Для продукування рекомбінантних білків доступні різні великомасштабні процедури ферментації з періодичним підживленням. Великомасштабні процеси ферментації характеризуються ємністю щонайменше 1000 літрів, переважно від 1000 до 100.000 літрів. Ці ферментери оснащені лопатевими мішалками для розподілу кисню і поживних речовин, особливо глюкози (переважне джерело вуглецю/енергії). Як правило, маломасштабний процес ферментації передбачає ферментацію у ферментері, об'єм якого не перевищує приблизно 100 літрів, а може складати від приблизно 1 літра до приблизно 100 літрів.

Під час процесу ферментації індукцію експресії білка зазвичай починають після вирощування клітин у відповідних умовах до бажаної густини, наприклад, OD550 з приблизно 180-220, при якій клітини знаходяться в ранній стаціонарній фазі. Як відомо в даній галузі техніки і описано вище, згідно із застосовуваною векторною конструкцією, можна застосовувати безліч індукторів. Клітини можна вирощувати протягом більш коротких періодів перед індукуванням. Як правило, клітини індують протягом приблизно 12-50 годин, хоча період часу індукції може бути довший або коротший.

З метою збільшення кількості та підвищення якості продукованих антитіл за даним винаходом, можна модифікувати різні умови ферментації. Наприклад, щоб поліпшити правильне складання секретованих поліпептидів, для спільного трансформування прокаріотичних клітин-господарів можна застосовувати додаткові вектори, надекспресуючі білки-шаперони, такі як білки Dsb (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD і DsbG) або FkpA (пептидилпроліліс-цис, транс-ізомерази з шапероновою активністю). Продемонстровано, що білки-шаперони сприяють правильному складанню і розчинності гетерологічних білків, що продукуються в бактеріальних клітинах-господарях. Chen et al. (1999) *J Bio Chem* 274: 19601-19605; Georgiou et al., венті США № 6083715; Georgiou et al., венті США № 6027888; Bothmann and Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275: 17100-17105; Ramm and Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275: 17106-17113; Arie et al. (2001) *Mol. Microbiol.* 39: 199-210.

Щоб звести до мінімуму протеоліз експресованих гетерологічних білків (особливо тих, які є протеолітично чутливими), для даного винаходу можна застосовувати деякі штами клітин-господарів з дефіцитом протеолітичних ферментів. Наприклад, штами клітин-господарів можна модифікувати для здійснення генетичної(их) мутації(й) в генах, що кодують відомі бактеріальні протеази, такі як протеаза III, OmpT, DegP, Tsp, протеаза I, протеаза Mi, протеаза V, протеаза VI і їх комбінації. Деякі протеазодефіцитні штами *E. coli* доступні і описані, наприклад, в Joly et al. (1998), вище; Georgiou et al., в патенті США № 5264365; Georgiou et al., в патенті США № 5508192; Hara et al., *Microbial Drug Resistance*, 2: 63-72 (1996).

Штами *E. coli* з дефіцитом протеолітичних ферментів і трансформовані плазмідами, які надекспресують один або більшу кількість шаперонових білків, можна застосовувати як клітини-господарі в системі експресії, яка кодує антитіла за даним винаходом.

d) Очищення білка

Одержані антитіла додатково очищують для одержання препаратів, які по суті є гомогенними для подальшого аналізу і застосування. Можна застосовувати стандартні способи очищення білка, відомі в даній галузі техніки. Наступні процедури є типовими придатними процедурами очищення: фракціонування на імуноафінних або іонообмінних колонках, осадження етанолом, ВЕРХ (методом високоефективної рідинної хроматографії) з оберненою фазою, хроматографії на діоксиді кремнію або на катіонообмінній смолі, такий як DEAE, хроматофокусування, ДСН-ПААГ-електрофорез, осадження сульфатом амонію і гель фільтрація із застосуванням, наприклад, Sephadex G-75.

В одному аспекті білок А, іммобілізований на твердій фазі, застосовують для імуноафінного очищення антитіл, що містять Fc-область з даного винаходу. Білок А є білком клітинної стінки 41kD з *Staphylococcus aureus*, який зв'язується з Fc-областю антитіл з високою афінністю. Lindmark et al (1983) *J. Immunol. Meth.* 62: 1-13. Тверда фаза, до якої іммобілізований білок А, переважно є колонкою, що містить поверхню скла або діоксиду кремнію, більш переважно контрольовану колонку з пористого скла або колонку з кремнієвою кислотою. У деяких випадках колонку покривали реагентом, таким як гліцерин, з метою запобігання неспецифічній адгезії забруднюючих речовин. Потім тверду фазу промивали для видалення домішок, неспецифічно зв'язаних з твердою фазою. Нарешті, антитіла, що представляють інтерес, витягували з твердої фази шляхом елювання.

4. Рекombінантна продукція в прокаріотичних клітинах

При еукаріотичній експресії компоненти вектора, як правило, включають в себе, але не обмежуються ними, один або більшу кількість з наступних елементів: сигнальну послідовність, джерело початку реплікації, один або більшу кількість маркерних генів та енхансерний елемент, промотор і послідовність термінації транскрипції.

а) Компонент сигнальної послідовності

Вектор для застосування в еукаріотичному господарі може також містити вставку, яка кодує сигнальну послідовність або інший поліпептид, що має специфічну ділянку розщеплення на N-кінці зрілого білка або поліпептиду. Переважно вибрана гетерологічна сигнальна послідовність є такою, яка розпізнається і обробляється (тобто, розщеплюється сигнальною пептидазою) клітиною-хазяїном. Для експресії клітин ссавців доступні сигнальні послідовності ссавців, а також вірусні секреторні лідери, наприклад, сигнал gD простого герпесу.

ДНК такої області попередника лігують в рамці зчитування з ДНК, яка кодує антитіла за даним винаходом.

b) Джерело початку реплікації

5 Як правило, необхідності в джерелі початку реплікації для експресійних векторів ссавців немає (джерело початку реплікації SV40 зазвичай може застосовуватися тільки тому, що воно містить ранній промотор).

c) Компонент гена відбору

10 Експресійні і клонуючі вектори можуть містити ген відбору, що також називають селектованим маркером. Типові гени відбору кодують білки, які (а) надають стійкість до антибіотиків або інших токсинів, наприклад, ампіциліну, неоміцину, метотрексату або тетрацикліну, (b) доповнюють ауксотрофні дефіцити або (в) постачають критично важливі поживні речовини, недоступні зі складних середовищ, наприклад, ген, який кодує D-аланінову рацемазу для *Bacilli*.

15 В одному прикладі схеми відбору застосовують препарат для зупинки росту клітини-господаря. Ті клітини, які успішно трансформуються гетерологічним геном, продукують білок, що надає лікарську стійкість, і, таким чином, виживають при режимі відбору. У прикладах такого домінуючого відбору застосовують такі препарати, як неоміцин, мікофенольну кислоту і гіроміцин.

20 Іншим прикладом придатних селектованих маркерів для клітин ссавців є такі маркери, які дозволяють ідентифікувати клітини, здатні приймати нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіла за даним винаходом, такі як DHFR, тимідинкіназа, металотіонеїн-I та -II, переважно гени металотіонеїну примата, аденозіндезамінази, орнітиндекарбоксилази і т.д.

25 Наприклад, клітини, трансформовані геном відбору DHFR, спочатку ідентифікують шляхом культивування всіх трансформантів в культуральному середовищі, яке містить метотрексат (Mtx), конкурентний антагоніст DHFR. Відповідна клітина-господар, в разі застосування DHFR дикого типу, є лінією клітин яєчника китайського хом'ячка (CHO) з дефіцитом активності DHFR (наприклад, ATCC CRL-9096).

30 В альтернативному варіанті клітини-господарі (зокрема, господарі дикого типу, які містять ендогенну DHFR), трансформовані або спів-трансформовані поліпептид-кодуючими послідовностями ДНК, білок DHFR дикого типу та інший селективний маркер, такий як аміноглікозид 3'-фосфотрансферази (APH), можна вибрати вирощування клітин в середовищі, що містить селективний агент для селектованого маркера, такого як аміноглікозидний антибіотик, наприклад, канаміцин, неоміцин або G418. Див. в патенті США № 4965199.

d) Компонент промотору

35 Як правило, експресійні і клонуючі вектори містять промотор, який розпізнається організмом-господарем і функціонально зв'язаний з нуклеїною кислотою, яка кодує бажані поліпептидні послідовності. Практично всі еукаріотичні гени мають АТ-збагачену область, розташовану на відстані приблизно 25-30 пар основ проти ходу транскрипції від ділянки, де ініціюється транскрипція. Інша послідовність, що розташована на відстані приблизно 70-80 пар основ проти 40 ходу транскрипції від початку транскрипції багатьох генів, є областю CNCAAT, де N може бути будь-яким з нуклеотидів. 3'-кінець більшості еукаріотів є послідовністю AATAAA, яка може бути сигналом для додавання полі-А-хвоста до 3'-кінця кодуючої послідовності. Всі ці послідовності можна вставити в еукаріотичні експресійні вектори.

45 Інші промотори, придатні для застосування з прокариотичними господарями, включають в себе промотор *RhoA*, системи промоторів галактамази і лактози, промотор лужної фосфатази, систему промоторів триптофану (*trp*) і гібридні промотори, такі як промотор *tac*. Однак придатні і інші відомі бактеріальні промотори. Промотори для застосування в бактеріальних системах також будуть містити послідовність Shine-Dalgarno (S. D.), функціонально зв'язану з ДНК, яка кодує антитіла.

50 Транскрипцію поліпептиду з векторів в клітинах-господарях ссавців контролюють, наприклад, за допомогою промоторів, одержаних з геномів вірусів, таких як вірус поліоми, вірус віспи курей, аденовірус (наприклад, аденовірус 2), вірус папіломи великої рогатої худоби, вірус саркоми птахів, цитомегаловірус, ретровірус, вірус гепатиту В і найбільш переважно вірус мавп 40 (SV40), з гетерологічних промоторів ссавців, наприклад, промотору актину або промотору 55 імуноглобуліну, з промоторів білків теплового шоку, за умови, що такі промотори сумісні з системами клітин-господарів.

60 Ранні та пізні промотори вірусу SV40 зазвичай одержують у вигляді рестрикційного фрагмента SV40, який також містить вірусне джерело початку реплікації SV40. Безпосередній ранній промотор цитомегаловірусу людини зазвичай одержують у вигляді рестрикційного фрагмента HindIII E. Система для експресії ДНК у господарів ссавців із застосуванням вірусу

папіломи великої рогатої худоби у вигляді вектора описана в патенті США № 4419446. Модифікація цієї системи описана в патенті США № 4601978. Див. також публікацію Reyes et al., Nature 297: 598-601 (1982) стосовно експресії кДНК інтерферону людини в клітинах миші під контролем промотору тімідин-кінази з вірусу простого герпесу. В альтернативному варіанті як промотор можна застосовувати довгий кінцевий повтор вірусу саркоми Рауса.

е) Компонент елемента енхансера

Транскрипцію ДНК, яка кодує антитіла за даним винаходом, у вищих еукаріотів, часто підвищують шляхом введення енхансерної послідовності в вектор. В даний час відомо багато енхансерних послідовностей з генів ссавців (глобін, еластаза, альбумін, α -фетопротеїн та інсулін). Однак, як правило, можна застосовувати енхансер від вірусної еукаріотичної клітини. Приклади включають в себе енхансер SV40 на "пізній" стороні точки початку реплікації (100-270 п.о.), Цитомегаловірусний енхансер раннього промотору, поліомавірусний енхансер на "пізній" стороні точки початку реплікації і аденовірусні енхансери. Див. також публікацію Yaniv, Nature 297: 17-18 (1982) стосовно енхансерних елементів для активації еукаріотичних промоторів. Енхансер може бути сплайсований у вектор в положенні 5' або 3' в поліпептиді, який кодує послідовність, але переважно розташований на ділянці 5' від промотору.

ф) Компонент термінації транскрипції

Експресійні вектори, що застосовуються в клітині-господарях (дріжджі, гриби, комахи, рослини, тварини, людські або зародкові клітини з інших багатоклітинних організмів) також будуть містити послідовності, необхідні для термінації транскрипції і для стабілізації мРНК. Такі послідовності зазвичай доступні з 5'- і, іноді, 3'-нетрансльованих областей еукаріотичних або вірусних ДНК або кДНК. Ці області містять нуклеотидні сегменти, що транскрибуються у вигляді поліаденільованих фрагментів у нетрансльованій частині мРНК, яка кодує поліпептид. Одним з придатних компонентів термінації транскрипції є область поліаденілювання гормону росту великої рогатої худоби. Див. Публікацію WO94/11026 і описаний в ній експресійний вектор.

г) Відбір і трансформація клітин-господарів

Придатні клітини-господарі для клонування або експресії ДНК в описаних в даному документі векторах включають в себе вищі еукаріотні клітини, описані в даному документі, включаючи клітини-господарі хребетних. Вирощування клітин хребетних в культурі (культурі тканин) стало звичайною процедурою. До прикладів придатних клітинних ліній ссавців як клітини-господарі відносяться лінія клітин CV1 нирок мавпи, трансформована SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); лінія ембріональних клітин нирок людини (клітини 293 або клітини 293, субклоновані для росту в суспензійній культурі, які описані в публікації Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59 (1977)); клітини нирок дитинча хом'яка (ВНК, ATCC CCL 10); клітини яєчника китайського хом'яка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); клітини сертолі миші (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251, 1980); клітини нирок мавпи (CV1 ATCC CCL 70); клітини нирок африканської зеленої мавпи (VERO-76, ATCC CRL-1 587); клітини цервікальної карциноми людини (HELA, ATCC CCL 2); клітини нирок собак (MDCK, ATCC CCL 34); клітини печінки щура лінії Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клітини легенів людини (W138, ATCC CCL 75); клітини печінки людини (Hep G2, HB 8065); пухлини молочної залози миші (MMT 060562, ATCC CCL51); TRI-клітини (Mather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383: 44-68 (1982)); клітини MRC-5; клітиним FS-4; і лінії гепатоми людини (Hep G2).

Клітини-господарі трансформують за допомогою вищеописаних експресійних або клонуючих векторів для продукування антитіл і культивують в звичайних поживних середовищах, модифікованих, якщо необхідно, для індукування промоторів, відбору трансформантів або ампліфікації генів, які кодують бажані послідовності.

h) Культивування клітин-господарів

Клітини-господарі, які застосовуються для продукування антитіл за даним винаходом, можна культивувати в різних середовищах. Для культивування клітин-господарів придатні комерційно доступні середовища, такі як Ham's F10 (Sigma), мінімальне поживне середовище (MEM), (Sigma), RPMI-1640 (Sigma) і середовище Голка в модифікації Дульбекко ((DMEM), Sigma). Крім того, будь-яке середовище, описане в публікації Ham et al., Meth. Enz. 58: 44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102: 255 (1980), в патенті США № 4767704; 4657866; 4927762; 4560655; або 5122469; WO 90/03430; WO 87/00195; або в патенті США Re30985, можна застосовувати як культуральне середовище для клітин-господарів. Будь-яке з цих середовищ може бути збагачене в міру необхідності гормонами і/або іншими факторами росту (такими як інсулін, трансферин або епідермальний фактор росту), солями (такими як хлорид натрію, солями кальцію, магнію і фосфатами), буферами (такими як HEPES), нуклеотидами (такими як аденозин і тімідин), антибіотиками (такими як препарат ГЕНТАМІЦИНУ™), мікроелементами (визначеними як неорганічні сполуки, зазвичай присутні в кінцевих концентраціях в

мікромолярному діапазоні), а також глюкозою або еквівалентним джерелом енергії. Будь-які інші необхідні добавки також можуть бути включені у відповідних концентраціях, які будуть відомі фахівцям в даній галузі техніки. Умови культивування, такі як температура, рН тощо, є такими, які раніше застосовувалися з клітиною-хазяїном, відібраною для експресії, і будуть очевидні для звичайного кваліфікованого фахівця в даній галузі техніки.

5 і) Очищення білка

При застосуванні рекомбінантних методів, антитіла можна одержати внутрішньоклітинно, в периплазмі або безпосередньо секретувати в середовище. Якщо антитіло продукується внутрішньоклітинно, на першому етапі частинки дебрису, або клітини-господаря, або лізовані фрагменти видаляються, наприклад, шляхом центрифугування або ультрафільтрації. Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992) описує процедуру виділення антитіл, які секретуються в периплазму *E. coli*. Якщо коротко, клітинну суспензію розморожують в присутності ацетату натрію (рН 3,5), ЕДТА і фенілметилсульфонілфториду (PMSF) протягом приблизно 30 хв. Клітинний дебрис можна видалити за допомогою центрифугування. Коли антитіло секретується в середовище, супернатант з таких систем експресії, як правило, спочатку концентрують за допомогою комерційно доступного фільтра для концентрації білка, наприклад, ультрафільтраційної установки Amicon або Millipore Pellicon. З метою інгібування протеолізу на будь-якому з перерахованих вище етапів можна застосовувати інгібітор протеази, такий як PMSF, крім того, для запобігання зростанню випадкових контамінуючих агентів можна застосовувати антибіотики.

Композицію білка, одержану з клітин, можна очистити за допомогою, наприклад, гідроксипатітової хроматографії, гель-електрофорезу, діалізу і афінної хроматографії, причому переважною методикою очищення є афінна хроматографія. Придатність білка А як афінного ліганду залежить від виду та ізотипу будь-якого Fc-домену імуноглобуліну, який присутній в антитілі. Білок А можна застосовувати для очищення антитіл, які є похідними від імуноглобулінів людини, містять 1, 2 або 4 важкі ланцюги (Lindmark et al., *J. Immunol. Meth.* 62: 1-13 (1983)). Білок G рекомендується для всіх ізотипів миші і для людини 3 (Guss et al., *EMBO J.* 5: 15671575 (1986)). Матриця, до якої приєднано афінний ліганд, найчастіше є агарозною, але доступні і інші матриці. Механічно стабільні матриці, такі як контрольоване пористе скло або полі(стирол-дивініл) бензол, дозволяють прискорити швидкість потоку і скоротити час обробки, в порівнянні з агарозною матрицею. Якщо антитіло містить домен C_{H3}, для очищення, придатною є смола Bakerbond ABXTM (J. T. Baker, Філіпсбург, штат Нью-Джерсі). В залежності від антитіла, що підлягає вилученню, доступні також інші методи очищення білка, такі як фракціонування на іонообмінній колонці, осадження етанолом, ВЕРХ з оберненою фазою, хроматографія на діоксиді кремнію, хроматографія на гепарині SEPHAROSE™, хроматографія на аніонній або катіонообмінній смолі (такій як колонка з поліаспарагіновою кислотою), хроматофокусування, ДСН-ПААГ-електрофорез і осадження сульфатом амонію.

Після будь-якого(их) етапу(ів) попереднього очищення суміш, яка містить антитіло, що цікавить, і контамінуючі агенти, може бути піддана хроматографії з гідрофобною взаємодією з низьким рН із застосуванням буфера для елюювання при рН між приблизно 2,5-4,5, переважно при низьких концентраціях солей (наприклад, від приблизно 0-0,25M солі).

Імунокон'югати

У деяких варіантах здійснення даного винаходу також пропонуються імунокон'югати, що містять будь-яке з антитіл (наприклад, однодоменні антитіла), описаних в даному документі, кон'югованих з одним або більшою кількістю цитотоксичних агентів, наприклад, хіміотерапевтичними засобами або лікарськими речовинами, інгібіторами росту, токсинами (наприклад, білковими токсинами, токсинами бактеріального, грибового, рослинного або тваринного походження, що володіють ферментативною активністю, або їх фрагмента і/або радіоактивними ізотопами).

У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунокон'югат є кон'югатом антитіло-лікарський засіб (ADC), в якому антитіло кон'юговане з одним або більшою кількістю лікарських засобів, включаючи, але не обмежуючись ними, майтансиноїд (див. в патентах США №№ 5202020, 5416064 та в Європейському патенті EP 0 425 235 B1); аурістатін, наприклад, фрагменти лікарського засобу монометилаурістатину DE і DF (MMAE і MMAF) (див. в патентах США №№ 5635483 і 5780588, а також 7498298); доластатін; каліхеаміцин або його похідне (див. в патентах США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 5773001 та 5877296; Hinman et al., *Cancer Res.* 53: 3336-3342 (1993); і Lode et al., *Cancer Res.* 58: 2925-2928 (1998)); антрациклін, такий як дауноміцин або доксорубіцин (див. Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13: 477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16: 358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16: 717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 829-834 (2000);

Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45: 4336-4343 (2002); і патент США № 6630579); метотрексат; віндезін; таксан, такий як доцетаксел, паклітаксел, ларотаксел, тезетаксел і ортатаксел; тріхотецен; а також CC1065.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунокон'югат містить антитіло, як описано в даному документі, яке кон'юговане з ферментативно активним токсином або його фрагментом, включаючи, але не обмежуючись ними, ланцюг А дифтерійного токсину, незв'язувальні активні фрагменти дифтерійного токсину, ланцюг А екзотоксину (з *Pseudomonas aeruginosa*), ланцюг А рицину, ланцюг А абрину, ланцюг А модексину, альфа-сарцин, білки *Aleurites fordii*, білки діантини, білки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII і PAP-S), інгібітор *Momordica charantia*, курцин, кротин, інгібітор *Saponaia officinalis*, гелонін, ітогеллін, рестріктоцин, феноміцин, еноміцин або трікотецени.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунокон'югат містить антитіло, як описано в даному документі, яке кон'юговане з радіоактивним атомом з утворенням радіокон'югату. Для одержання радіокон'югатів доступні різноманітні радіоактивні ізотопи. Приклади включають в себе At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², Pb²¹² та радіоактивні ізотопи Lu. У разі, якщо радіокон'югат застосовують для виявлення, він може містити радіоактивний атом для сцинтиграфічних досліджень, наприклад, tc99m або I123, або спінову мітку, що застосовується для візуалізації ядерного магнітного резонансу (ЯМР) (також відомого як магнітно-резонансна томографія, МРТ), таку як, знову ж таки, йод-123, йод-131, індій-111, фтор-19, вуглець-13, азот-15, кисень-17, гадоліній, марганець або залізо.

Кон'югати антитіла і цитотоксичного агента можуть бути одержані із застосуванням множини біфункціональних агентів, що зв'язують білок, таких як N-сукциніміди-3-(2-піридилдітіо) пропіонат (SPDP), сукциніміди-4- (N-малеїмідометил) циклогексан-1 карбоксилат (SMCC), імінотіолан (IT), біфункціональні похідні імідоефірів (такі як диметиладипімідат HCl), активні складні ефіри (такі як дисукцинімідил суберат), альдегіди (такі як глутаровий альдегід), біс-азідосполуки (такі як біс (п-азідобензоїл) гександіамін), похідні біс-діазонію (такі як біс (п-діазонійбезоїл) -етилендамін), диізоціанати (такі як толуол-2,6-диізоціанат) і біс-активні сполуки фтору (такі як 1,5-дифтор-2, 4-динітробензол). Наприклад, рициновий імунотоксин можна одержати, як описано у Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987). 1-ізотіоціанатбензил-3-метилдиетилентриамінпентаоцтова кислота (MX-DTPA), мічена вуглецем-14, є типовим хелатуючим агентом для кон'югування радіонуклеотиду з антитілом. Див. WO94/11026. Лінкер може являти собою "розщеплюваний лінкер", який полегшує вивільнення цитотоксичного лікарського засобу в клітині. Наприклад, можна застосовувати кислотну-лабільний лінкер, чутливий до пептидази лінкер, фотоллабільний лінкер, диметиловий лінкер або дисульфідвмісний лінкер (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131 (1992); патент США № 5208020).

У даному винаході безумовно передбачається застосування імунокон'югатів або ADC, але без обмеження, наприклад, кон'югатів, одержаних із застосуванням реагентів крос-лінкера, включаючи, але не обмежуючись ними, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC і сульфо-SMPB і SVSB (сукцинімідил- (4-вінілсульфон) бензоат), які є комерційно доступними (наприклад, від компанії Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, штат Іллінойс, США).

Способи та композиції для діагностики та виявлення

У деяких варіантах здійснення даного винаходу будь-яке з антитіл (такі як однодоменні антитіла), описаних в даному документі, є придатним для виявлення наявності відповідного антигену (такого як CD19, CD20, BCMA або CD38) в біологічному зразку. В даному контексті термін "виявлення" охоплює кількісне або якісне виявлення. У деяких варіантах здійснення даного винаходу біологічний зразок є кров'ю, сироваткою або іншим рідким зразком біологічного походження. У деяких варіантах здійснення даного винаходу біологічний зразок включає клітину або тканину.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD19 (таке як будь-яке однодоменне антитіло анти-CD19, описане в даному документі) для застосування в способі діагностики або виявлення. У додатковому аспекті пропонується спосіб виявлення наявності CD19 в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає виявлення наявності білка CD19 в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 є CD19 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає приведення в контакт біологічного зразка з антитілом анти-CD19, як описано в даному документі, в умовах, що забезпечують зв'язування антитіла анти-CD19 з CD19, і визначення утворення комплексу антитіла анти-CD19 з CD19. Такий спосіб можна здійснювати *in vitro* або *in vivo*. У деяких варіантах здійснення даного

винаходу антитіло анти-CD19 застосовують для вибору суб'єктів, які підходять для лікування за допомогою антитіла анти-CD19, наприклад, якщо CD19 є біомаркером для відбору пацієнтів.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD20 (таке як будь-яке однодоменне антитіло анти-CD20, описане в даному документі) для застосування в способі діагностики або виявлення. У додатковому аспекті пропонується спосіб виявлення наявності CD20 в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає виявлення наявності білка CD20 в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 є CD20 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає приведення в контакт біологічного зразка з антитілом анти-CD20, як описано в даному документі, в умовах, що забезпечують зв'язування антитіла анти-CD20 з CD20, і визначення утворення комплексу антитіла анти-CD20 з CD20. Такий спосіб можна здійснювати *in vitro* або *in vivo*. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 застосовують для вибору суб'єктів, які підходять для лікування за допомогою антитіла анти-CD20, наприклад, якщо CD20 є біомаркером для відбору пацієнтів.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-BCMA (таке як будь-яке однодоменне антитіло анти-BCMA, описане в даному документі) для застосування в способі діагностики або виявлення. У додатковому аспекті пропонується спосіб виявлення наявності BCMA в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає виявлення наявності білка BCMA в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA є BCMA людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає приведення в контакт біологічного зразка з антитілом анти-BCMA, як описано в даному документі, в умовах, що забезпечують зв'язування антитіла анти-BCMA з BCMA, і визначення утворення комплексу антитіла анти-BCMA з BCMA. Такий спосіб можна здійснювати *in vitro* або *in vivo*. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-BCMA застосовують для вибору суб'єктів, які підходять для лікування за допомогою антитіла анти-BCMA, наприклад, якщо BCMA є біомаркером для відбору пацієнтів.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується антитіло анти-CD38 (таке як будь-яке однодоменне антитіло анти-CD38, описане в даному документі) для застосування в способі діагностики або виявлення. У додатковому аспекті пропонується спосіб виявлення наявності CD38 в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає виявлення наявності білка CD38 в біологічному зразку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 є CD38 людини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений спосіб включає приведення в контакт біологічного зразка з антитілом анти-CD38, як описано в даному документі, в умовах, що забезпечують зв'язування антитіла анти-CD38 з CD38, і визначення утворення комплексу антитіла анти-CD38 з CD38. Такий спосіб можна здійснювати *in vitro* або *in vivo*. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD38 застосовують для вибору суб'єктів, які підходять для лікування за допомогою антитіла анти-CD38, наприклад, якщо CD38 є біомаркером для відбору пацієнтів.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мічені антитіла (такі як однодоменні антитіла анти-CD19, анти-CD20, анти-BCMA або анти-CD38). Мітки включають в себе, але не обмежуються перерахованим, мітки або фрагменти, які можна детектувати безпосередньо (такі як флуоресцентні, хромофорні, електрощільні, хемілюмінесцентні і радіоактивні мітки), а також фрагменти, такі як ферменти або ліганди, які можна детектувати побічно, наприклад, за допомогою ферментативної реакції або молекулярної взаємодії. Типові мітки включають в себе, але не обмежуються перерахованим, радіоізотопи ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H і ^{131}I , флуорофор, такі як рідкоземельні хелати або флуоресцеїн і його похідні, родамін і його похідні, данс, умбелліферон, люциферазу, наприклад, люциферазу світлячка і бактеріальну люциферазу (описана в патенті США № 4737456), люциферин, 2,3-дигідрофталазіндіони, пероксидазу хрону (HRP), лужну фосфатазу, β -галактозидазу, глюкоамілазу, лізозим, сахаридоксидазу, наприклад, глюкооксидазу, галактооксидазу і глюкоза-6-фосфат дегідрогеназу, гетероциклічні оксидази, такі як уриказа і ксантинооксидаза, приєднані до ферменту, який використовує пероксид водню для окислення попередника барвника, такому як HRP, лактопероксидаза або мікропероксидаза, біотин/авідин, спінові мітки, бактеріофагові мітки, стабільні вільні радикали і т. п.

III. Химерні рецептори антигенів

В одному аспекті даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів (CAR), що містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить одне або декілька однодоменних антитіл (таких як V_H). Будь-яке одне однодоменних антитіло, описане в розділі II, можна застосовувати в CAR, описаних в даному документі. Типові CAR, що містять один або більшу кількість доменів V_H (тобто, CAR на основі V_H), проілюстровані і порівнюються зі звичайними

CAR, що містять scFvs (тобто, CAR на основі scFv) на ФІГ. 1A-1D. Фахівцю в даній галузі техніки повинне бути зрозуміло, що домени V_HH в типових CAR на ФІГ. 1A-1D можуть бути замінені іншими sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з антигеном (таким як пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є полівалентним, наприклад, двовалентним або тривалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним.

Химерні рецептори антигенів специфічних мішеней

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонуються CAR, що містять позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить будь-який з описаних в даному документі однодоменних антитіл анти-CD19, анти-CD20, анти-BCMA або анти-CD38. CAR можуть бути моноспецифічними або мультиспецифічними (наприклад, біспецифічні або з більш великим числом специфічностей), а також CAR можуть бути моновалентними або полівалентними (наприклад, двовалентні, тривалентні або більше з більш високим числом валентностей). Перелік типових моноспецифічних химерних антигенних рецепторів, типові послідовності, конструкції і їх вектори наведені в Таблиці 4.

В Таблицях 4, 5 і 6, наведених в розділі "III. Химерний рецептор антигенів" використовуються такі скорочення: Тип.: типовий; Век.: вектор; AA: послідовність амінокислот CAR; NA: послідовність нуклеїнових кислот CAR; СП: сигнальний пептид; Позаклітинний: позаклітинний антигензв'язуючий домен; sdAb: однодоменне антитіло; ТМ: трансмембранний домен; КО1: спів-стимулюючий сигнальний домен 1; КО2: спів-стимулюючий сигнальний домен 2; Перв.: Первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен. Домени перераховані зліва направо в кожному рядку, що відповідає порядку доменів від N-кінця до С-кінця поліпептиду CAR.

60 1. CD19 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CAR, націлений на CD19 (також згадується в даному документі як "CD19 CAR"), що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD19 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є полівалентним, наприклад, двовалентним або тривалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD19 CAR, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD19 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD19 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2 і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb додатково містить FR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 240, FR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 241, FR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 242, та/або FR4, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 243. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR є полівалентним, наприклад, двовалентним або тривалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD19 CAR, що містить

поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 248. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD19 CAR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 248. Також пропонується поліпептид, що

5

містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 248.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який CD19 CAR, описаний в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 250. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують CD19 CAR, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

10

15

2. CD20 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CAR, націлений на CD20 (також згадується в даному документі як "CD20 CAR"), що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD20 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 249. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR є полівалентним, наприклад, двовалентним або тривалентним.

20

25

30

35

40

45

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD20 CAR, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD20 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD20 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb додатково містить FR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 244, FR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 245, FR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 246, та/або FR4, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 247. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb містить домен V_NH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах

50

60

здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR є моновалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 249. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR є полівалентним, наприклад, двовалентним або тривалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD20 CAR, що містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 249. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD20 CAR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 249. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 249.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який CD20 CAR, описаний в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 251. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 251. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують CD20 CAR, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

3. BCMA CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CAR, націлений на BCMA (також згадується в даному документі як "BCMA CAR"), що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий

сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8 α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ВСМА CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ВСМА CAR є моновалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується ВСМА CAR, що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-ВСМА sdAb; (b) трансмембранний домен; і (с) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-ВСМА sdAb містить будь-який з наступних елементів:

(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-ВСМА sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-ВСМА sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ВСМА CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ВСМА CAR додатково містить сигнальний пептид

(такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR є моновалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується BCMA CAR, що містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності, вибраним з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-162 і 257-259. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується BCMA CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-162 і 257-259. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-162 і 257-259.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який з BCMA CAR, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 175-185 і 261-263. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 175-185 і 261-263. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують BCMA CAR, описані вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

4. CD38 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CAR, націлений на CD38 (також згадується в даному документі як "CD38 CAR"), що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і

первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR є моновалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD38 CAR, що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD38 sdAb містить будь-який з наступних елементів:

(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

(12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний

пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR є моновалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD38 CAR, що містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності, вибраним з групи, що складається з SEQ ID NO: 163-174 і 260. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD38 CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 163-174 і 260. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 163-174 і 260.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який CD38 CAR, описаний в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 186-197 і 264. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 186-197 і 264. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують CD38 CAR, описаних вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

5. CD22 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CAR, націлений на CD22 (також згадується в даному документі як "CD22 CAR"), що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD22 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD22 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як T-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD22 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD22 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD22 CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення

даного винаходу CD22 CAR є моновалентним.

Таблиця 4

Типові моноспецифічні, одновалентні CAR

Тип. Назва вектору або CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	СП	Позаклітин. sdAb	Шар-нір	ТМ	Внутрішньоклітинна сигналізація		
							КО1	КО2	Перв.
BCMA CAR									
PLVX-hEF1a-269A37346	1152	175	CCD8α	269A37346	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37348	1153	176	CCD8α	269A37348	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37917	1154	177	CCD8α	269A37917	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37355	1155	178	CCD8α	269A37355	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37915	1156	179	CCD8α	269A37915	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37936	1157	180	CCD8α	269A37936	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37953	1158	181	CCD8α	269A37953	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37965	1159	182	CCD8α	269A37965	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37972	1160	183	CCD8α	269A37972	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37353	1161	184	CCD8α	269A37353	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37948	1162	185	CCD8α	269A37948	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
GSI5011 CAR	257	261	CCD8α	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
GSI5019 CAR	258	262	CCD8α	269A37353	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
GSI5020 CAR	2259	263	CCD8α	269A37917	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
CD38 CAR									
PLVX-hEF1a-38A37333	1163	186	CCD8α	38A37333	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37336	1164	187	CCD8α	38A37336	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37699	1165	188	CCD8α	38A37699	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37331	1166	189	CCD8α	38A37331	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37717	167	190	CCD8α	38A37717	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37719	168	191	CCD8α	38A37719	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37330	169	192	CCD8α	38A37330	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ

PLVX-hEF1a-38A37334	170	193	CCD8α	38A37334	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37730	171	194	CCD8α	38A37730	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37340	172	195	CCD8α	38A37340	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37731	173	196	CCD8α	38A37731	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37326	174	197	CCD8α	38A37326	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
CD19 V _H H CAR	248	250	CD8α	CD19 V _H H	CD8α	CD28	CD28	NA	CD3ζ
CD20 V _H H CAR	249	251	CD8α	CD20V _H H	CD8α	CD28	CD28	NA	CD3ζ
GSI5012 CAR	260	264	CD8α	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ

Полівалентні химерні рецептори антигенів

У даному винаході також пропонуються полівалентні CAR, що мають дві або більшу кількість (наприклад, приблизно 2, 3, 4, 5, 6 або більше) ділянок зв'язування антигену, які містять 5 (наприклад, приблизно 2, 3, 4, 5, 6 або більше) ділянок зв'язування антигену, які містять односторонні антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR націлений на один антиген і містить дві або більшу кількість ділянок зв'язування для одного антигену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR націлений на 10 більш ніж один антиген, і при цьому полівалентний CAR містить дві або більшу кількість ділянок зв'язування щонайменше для одного антигену. Ділянки зв'язування, специфічні для одного і того ж антигену, можуть зв'язуватися з одним і тим же епітопом антигену або зв'язуватися з різними епітопами антигену. Ділянки зв'язування, специфічні для одного і того ж антигену, можуть містити однакові або різні односторонні антитіла.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний (наприклад, 15 двовалентний, тривалентний або з великим числом валентностей) химерний рецептор антигенів, що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, приблизно 2, 3, 4, 5, 6 або більше) односторонніх антитіл (sdAb), які специфічно зв'язуються з антигеном (таким як пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного 20 винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина sdAb є верблужими, химерними, людськими або гуманізованими. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина односторонніх антитіл є злитими один з одним за допомогою пептидних зв'язків або 25 пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить 30 первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як T-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, 35 CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як 40 сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний

внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний (наприклад, 5 двовалентний, тривалентний або з великим числом валентностей) химерний рецептор антигенів, що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з першим епітопом антигену (такого як пухлинний антиген), і друге однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з 10 другим епітопом антигену; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або 15 друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких 20 варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний 25 сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу 30 зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним.

40 Описані в даному документі полівалентні CAR можуть бути особливо придатні для націлювання на мультимерні антигени за допомогою синергетичного зв'язування різними ділянками зв'язування антигену або для посилення афінності зв'язування або авідності до антигену. Будь-яке з описаних в даному документі однодоменних антитіл, таких як антитіла анти-CD19, анти-CD20, анти-BCMA або анти-CD38, можна застосовувати в позаклітинному 45 антигензв'язуючому домені полівалентних CAR, описаних в даному документі. Перелік типових моноспецифічних полівалентних химерних антигенних рецепторів, їх типових послідовностей, конструкцій і векторів наведено в Таблиці 5.

1. Полівалентний BCMA CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CAR, 50 націлений на BCMA (також згадується в даному документі як "полівалентний BCMA CAR"), що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, 2, 3 або більшу кількість) анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного 55 винаходу множина антитіл анти-BCMA sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної 60 ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу

первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є тривалентним. Для побудови полівалентного ВСМА CAR можна застосовувати будь-яке з анти-ВСМА sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний ВСМА CAR, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, 2, 3 чи більше) анти-ВСМА sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-ВСМА sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-ВСМА sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-ВСМА sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина антитіл анти-ВСМА sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD8 α . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є тривалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний ВСМА CAR, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше анти-ВСМА sdAb і друге анти-ВСМА sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-ВСМА sdAb і друге анти-ВСМА sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами на ВСМА. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb розташоване на N-кінці другого анти-ВСМА sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb розташоване на С-кінці другого анти-ВСМА sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb і друге анти-ВСМА sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких

варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу

5 внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких

10 варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний

15 пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є тривалентним. У деяких варіантах

20 здійснення даного винаходу позаклітинний антигензв'язуючий домен додатково містить третій анти-ВСМА sdAb, яке специфічно зв'язується з епітопом, що відрізняється від першого і другого анти-ВСМА sdAb. Для побудови полівалентного ВСМА CAR можна застосовувати будь-яке з анти-ВСМА sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний ВСМА CAR, що

25 містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше анти-ВСМА sdAb і друге анти-ВСМА sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-ВСМА sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; і при цьому друге анти-ВСМА

30 sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb містить домен V_HH, що містить

35 амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb розташоване на N-кінці другого анти-ВСМА sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb розташоване на С-кінці другого анти-ВСМА sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-ВСМА sdAb і друге анти-ВСМА sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У

40 деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний

45 сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких

50 варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах

55 здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний ВСМА CAR є двовалентним.

60 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний ВСМА CAR, що

містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності, вибраним з групи, що складається з SEQ ID NO: 198-199 і 265-270. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний ВСМА CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 198-199 і 265-270. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 198-199 і 265-270.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка кодує будь-який з полівалентних ВСМА CAR, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 202-203 і 271-276. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 202-203 і 271-276. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують полівалентні ВСМА CAR, описані вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

2. Полівалентний CD38 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CAR, націлений на CD38 (також згадується в даному документі як "полівалентний CD38 CAR"), що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, 2, 3 або більшу кількість) анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина антитіл анти-CD38 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR є тривалентним. Для побудови полівалентного CD38 CAR можна застосовувати будь-яке з анти-CD38 sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CD38 CAR, що містить: а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому кожне з множини анти-CD38 sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу кожне з множини анти-CD38 sdAb містить домен V_HH, що містить

амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина антитіл анти-CD38 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD38, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD38, трансмембранний домен CD38, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR є тривалентним.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CD38 CAR, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше анти-CD38 sdAb і друге анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-CD38 sdAb і друге анти-CD38 sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами на CD38. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-CD38 sdAb розташоване на N-кінці другого анти-CD38 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-CD38 sdAb розташоване на С-кінці другого анти-CD38 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-CD38 sdAb і друге анти-CD38 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD38 CAR є тривалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу позаклітинний антигензв'язуючий домен додатково містить третій анти-CD38 sdAb, яке специфічно зв'язується з епітопом, що відрізняється від першого і другого анти-CD38 sdAb. Для побудови полівалентного CD38 CAR можна застосовувати будь-яке з анти-CD38 sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CD38 CAR, що містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % і 100 % ідентичністю з послідовністю SEQ ID NO: 93.

90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 200 або SEQ ID NO: 201. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CD38 CAR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 200 або SEQ ID NO: 201. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 200 або SEQ ID NO: 201.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який з полівалентних CD38 CAR, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 204 або SEQ ID NO: 205. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 204 або SEQ ID NO: 205. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують полівалентні CD38 CAR, описані вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

3. Інші типові полівалентні CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CAR, націлений на CD19 (також згадується в даному документі як "полівалентний CD19 CAR"), що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, 2, 3 або більшу кількість) анти-CD19 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина антитіл анти-CD19 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD19 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD19 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD19 CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD19 CAR є тривалентним. Для побудови полівалентного CD19 CAR можна застосовувати будь-яке з анти-CD19 sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CAR, націлений на CD20 (також згадується в даному документі як "полівалентний CD20 CAR"), що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, 2, 3 або більшу кількість) анти-CD20 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина антитіл анти-CD20 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної

ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий

5 сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α , розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену.

10 У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з

15 CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD20 CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD20 CAR є тривалентним. Для побудови полівалентного CD20 CAR можна застосовувати будь-яке з анти-CD20 sdAb.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується полівалентний CAR, націлений на CD22 (також згадується в даному документі як "полівалентний CD22 CAR"), що

20 містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину (наприклад, 2, 3 або більшу кількість) анти-CD22 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD22 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного

25 винаходу множина антитіл анти-CD22 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний

30 сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий

35 сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD22 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем

40 трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD22 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-

45 стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD22 CAR є двовалентним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CD22 CAR є тривалентним.

Типовий моноспецифічний полівалентний CAR

CCAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	СП	Позаклітинний антигензв'язуючий домен					Шарнір	TM	Внутрішньо клітинна сигналізація	
				sdAb #1	Lnk. #1 SEQ ID	sdAb #2	Lnk. #2 SEQ ID	sdAb #3			KO1	Перв.
GSI5014	198	202	CD8α	269A37346	144	269A37346	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5015	199	203	CD8α	269A37346	144	269A37346	144	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5016	200	204	CD8α	38A37717	144	38A37717	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5017	201	205	CD8α	38A37717	144	38A37717	144	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5021	265	271	CD8α	269A37353	144	269A37917	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5022	266	272	CD8α	269A37353	149	269A37917	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5023	267	273	CD8α	269A37353	151	269A37917	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5024	268	274	CD8α	269A37917	145	269A37353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5025	269	275	CD8α	269A37917	149	269A37353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5026	270	276	CD8α	269A37917	150	269A37353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ

Мультиспецифічний химерний рецептор антигенів

У даному винаході також пропонуються мультиспецифічні химерні рецептори антигенів, націлені на два або більшу кількість (наприклад, на приблизно 2, 3, 4, 5, 6 або більше) різних антигенів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR має одну антигензв'язуючу ділянку для кожного антигену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR має більше двох ділянок зв'язування щонайменше для одного антигену. Кожна антигензв'язуюча ділянка може містити однодоменне антитіло. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний химерний рецептор антигенів є біспецифічним CAR, що містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два різних sdAb, кожне з яких специфічно зв'язується з антигеном. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR є триспецифічним CAR, що містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить три різних sdAb, кожне з яких специфічно зв'язується з антигеном.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з першим антигеном (таким як перший пухлинний антиген), і друге однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з другим антигеном (таким як другий пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший антиген відрізняється від другого антигену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген і/або другий антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як T-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких

варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ .

В залежності від бажаного антигену, що є мішенню, CAR за даним винаходом можуть бути сконструйовані так, щоб включати в себе відповідні однодоменні антитіла, які є специфічними для бажаних антигенів. Будь-яке одне або декілька з описаних в даному документі антитіл анти-CD19, анти-CD20, анти-BCMA або анти-CD38 можна застосовувати у позаклітинному антигензв'язуючому домені в CAR згідно з винаходом. Однодоменні антитіла можна розташовувати в будь-якому потрібному порядку. Наприклад, перше однодоменне антитіло з'єднують з N-кінцем або С-кінцем другого однодоменні антитіла. Придатний пептидний лінкер можна розташувати між різними однодоменні антитілами, щоб уникнути стеричної невідповідності між однодоменні антитілами. Перелік типових біспецифічних химерних антигенних рецепторів, їх типових послідовностей, конструкцій і векторів наведено в Таблиці 6.

1. BCMA \times CD38 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR за даним винаходом є біспецифічним CAR, який одночасно націлений на BCMA і CD38. Наприклад, BCMA і CD38 можна застосовувати як кандидатів для націлювання антигенів, що експресуються на множині мієломних клітин.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів, націлений на BCMA і CD38 (також згадується в даному документі як "BCMA \times CD38 CAR"), що включає в себе поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з BCMA, і друге однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з CD38; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є злитим з другим sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є злитим з другим sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний

домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ .

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів, націлений на BCMA і CD38 (також згадується в даному документі як "BCMA \times CD38 CAR"), що включає в себе поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-BCMA і однодоменне антитіло анти-CD38; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому однодоменне антитіло анти-BCMA містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, і CDR3 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; і при цьому антитіло анти-CD38 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb і/або анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb і анти-CD38 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є злитим з анти-CD38 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-BCMA злино на C-кінці з анти-CD38 sdAb. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як T-клітина). В деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується BCMA \times CD38 CAR, що містить поліпептид, який містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , однодоменне антитіло анти-CD38, пептидний лінкер, однодоменне антитіло анти-BCMA, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен одержаний з CD8 α ; при цьому однодоменне антитіло анти-BCMA містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; і при цьому антитіло анти-CD38 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR, містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності, вибраним з групи, що складається з SEQ ID NO: SEQ ID NO: 207-211. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується BCMA \times CD38 CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 207-211. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну

послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 207-211.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується ВСМА × CD38 CAR, що містить поліпептид, який містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, однодоменне антитіло анти-ВСМА, пептидний лінкер, однодоменне антитіло анти-CD38, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен одержаний з CD3ζ; при цьому однодоменне антитіло анти-ВСМА містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; і при цьому антитіло анти-CD38 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу ВСМА × CD38 CAR, містить поліпептид, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності, вибраним з групи, що складається з SEQ ID NO: SEQ ID NO: 212-216. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується ВСМА × CD38 CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 212-216. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 212-216.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який з ВСМА × CD38 CAR, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 218-227. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 218-227. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують ВСМА×CD38 CAR, описані вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

2. CD19×CD20 CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антигени диференціювання В-клітин, такі як CD19 і CD20, є кандидатами для застосування як антигени-мішені при В-клітинній лімфомі. Застосування деяких з цих антигенів як мішені для пасивної імунотерапії моноклональними антитілами характеризувалося обмеженою ефективністю. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR за даним винаходом є біспецифічним CAR, який одночасно націлений на CD19 і CD20.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів, націлений на CD19 і CD20 (також згадується в даному документі як "CD19×CD20 CAR"), що включає в себе поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з CD19, і друге однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з CD20; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є злитим з другим sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb є злитим з другим sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У

деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу

5 внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких

10 варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення

15 даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ .

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (такий як біспецифічний) химерний рецептор антигенів, націлений на CD19 і CD20 (також згадується в

20 даному документі як "CD19 \times CD20 CAR"), що включає в себе поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-CD19 і однодоменне антитіло анти-CD20; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому однодоменне антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ

25 ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і при цьому антитіло анти-CD20 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких

30 варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і анти-CD20 sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах

35 здійснення даного винаходу анти-CD19 є злитим з анти-CD20 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше анти-CD19 є злитим з антитілом анти-CD20 sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить

40 амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 146. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу

45 первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR

50 додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. В деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD19 \times CD20 CAR, що містить поліпептид, який містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , однодоменне антитіло анти-CD19, пептидний лінкер, однодоменне антитіло анти-CD20, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і

55 первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ ; при цьому однодоменне антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1,

60

CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і при цьому антитіло анти-CD20 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 146. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD19 × CD20 CAR, що містить поліпептид, який характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності SEQ ID NO: 206. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD19 × CD20 CAR, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 206. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 206.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка кодує будь-який CD19 × CD20 CAR, описаний в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка характеризується щонайменше приблизно 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю до послідовності нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 217. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 217. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є ДНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу виділена нуклеїнова кислота є РНК. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують CD19 × CD20 CAR, описані вище. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є експресійним вектором. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором, таким як лентівірусний вектор.

В даний час імунотерапія, націлена на CD19, характеризується високою ефективністю в клінічних дослідженнях. У клінічних дослідженнях короткочасного лікування ALL з впливом на CD19 CAR-T-клітини досягається повна ремісії в приблизно 90 % випадків. Однак в приблизно 10 % пацієнтів розвивався рецидив після декількох місяців лікування. Основна причина полягала в тому, що CD19 зникав під час дозрівання В-клітин в плазматичних клітинах, а залишкові пухлинні клітини продукували зниклі варіанти антигену CD19. CD19×CD20 CAR описані в даному документі, можуть одночасно націлюватися на поверхневі пухлинні антигени CD19 і CD20, які можуть посилювати системну протипухлинну активність Т-клітин та зменшувати частоту феномена "відходу від мішені", який зумовлює щонайменше 30 % рецидивів лейкозу після терапії CAR.

3. Інші типові мультиспецифічні CAR

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів, націлений на CD19 і CD22 (також згадується в даному документі як "CD19×CD22 CAR"), що включає в себе поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-CD19 і однодоменне антитіло анти-CD22; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-CD22 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло анти-CD22 і друге однодоменне антитіло анти-CD22 є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-CD22 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-CD22 sdAb на C-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої

молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×CD22 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×CD22 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу одностороннє антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів, націлений на CD19 і BCMA (також згадується в даному документі як "CD19×BCMA CARR"), що включає в себе поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить одностороннє антитіло анти-CD19 і одностороннє антитіло анти-BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-BCMA sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу одностороннє антитіло анти-BCMA і одностороннє антитіло анти-BCMA є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-BCMA sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-BCMA sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу одностороннє антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3.

60

Типові біспецифічні CAR

CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	СП	Позаклітинний антигензв'язуючий домен			Шарнір	TM	KO1	Intra.
				sdAb #1	Лінкер SEQ ID	sdAb #2				
CD19×CD20	206	217	CD8α	CD19 V _H H	146	CD20V _H H	CD8α	CD28	CD28	CD3ζ
GSI5001	207	218	CD8α	38A37717	144	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5002	208	219	CD8α	38A37717	145	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5003	209	220	CD8α	38A37717	146	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5004	210	221	CD8α	38A37717	147	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5005	211	222	CD8α	38A37717	148	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5006	212	223	CD8α	269A37346	144	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5007	213	224	CD8α	269A37346	145	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5008	214	225	CD8α	269A37346	146	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5009	215	226	CD8α	269A37346	147	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI5010	216	227	CD8α	269A37346	148	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ

Позаклітинний антигензв'язуючий домен

Позаклітинний антигензв'язуючий домен CAR, описаний в даному документі, містить одне або декілька (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6 або більше) однодомених антитіл. Однодоменні антитіла можуть бути злиті одне з одним безпосередньо за допомогою пептидних зв'язків або за допомогою пептидних лінкерів.

1. Однодоменні антитіла

CAR за даним винаходом містять позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить одне або декілька однодомених антитіл. SdAbs можуть бути однакового або різного походження і однакового або різного розміру. Типові sdAbs включають в себе, але не обмежуються ними, варіабельні домени важкого ланцюга з антитіл тільки з важким ланцюгом (наприклад, V_HH або V_{NAR}), що зв'язують молекули, за своєю природою позбавлені легких ланцюгів, одиночні домени (такі як V_H або V_L), одержані зі звичайних 4-ланцюгових антитіл, гуманізовані антитіла тільки з важким ланцюгом, однодоменні антитіла людини, які продукуються трансгенними мишами або щурами, які експресують сегменти важкого ланцюга людини, а також сконструйовані домени і однодоменні каркаси, відмінні від тих, які одержані з антитіл. Будь-які sdAb, відомі в даній галузі техніки або розроблені авторами винаходу, включаючи однодоменні антитіла, описані в розділі II цієї заявки, можна застосовувати для конструювання CAR, описаних в даному документі. SdAb можуть бути одержані з будь-яких видів, включаючи, але не обмежуючись ними, мишу, щура, людину, верблюда, ламу, міногу, рибу, акул, козу, кролика і бика. Однодоменні антитіла, що розглядаються в даному документі, також включають в себе однодоменні молекули антитіл, що зустрічаються в природі, від інших видів, крім представників сімейства верблюжих і акул.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу sdAb є похідним від однодоменної антигензв'язуючої молекули, що зустрічається в природі, відомої як антитіло з важким ланцюгом, позбавлене легких ланцюгів (також згадується в даному документі як "антитіло тільки з важким ланцюгом"). Такі однодоменні молекули описані в WO 94/04678 і в публікації Hamers-Casterman, C. et al. (1993) Nature 363: 446-448, наприклад. Для ясності, варіабельний домен, що є похідним від молекули важкого ланцюга, за своєю природою позбавленої легкого ланцюга, позначається в даному документі як V_HH, щоб можна було відрізнити його від звичайного V_H чотириланцюгових імуноглобулінів. Така молекула V_HH може бути похідною від антитіл, вироблених в організмі представником виду верблюжих, наприклад, верблюда, лами, вікуньї, дромадера, альпаки і гуанако. Інші види, крім представників сімейства верблюжих, можуть продукувати молекули важкого ланцюга, які за своєю природою позбавлені легкого ланцюга, причому такі V_HH входять в обсяг і зміст даного винаходу.

Молекули V_HH представників сімейства верблюжих є приблизно в 10 разів меншими, ніж молекули IgG. Вони є одиночними поліпептидами і можуть бути дуже стабільними, зберігаючи стійкість до екстремальних значень рН і температури. Більш того, вони можуть бути стійкими до дії протеаз, що не відноситься до звичайних 4-ланцюгових антитіл. Більш того, експресія in vitro V_HH забезпечує високий рівень продукування правильно складених функціональних V_HH. Крім того, антитіла, що виробляються в організмі представників сімейства верблюжих, можуть

розпізнавати епітопи, відмінні від тих, які розпізнаються антитілами, що продукуються *in vitro*, шляхом застосування бібліотек антитіл або шляхом імунізації ссавців, що не відносяться до сімейства верблужих (див., наприклад, WO 9749805). Таким чином, мультиспецифічні або полівалентні CAR, що містять один або більшу кількість доменів V_HH можуть більш ефективно взаємодіяти з мішенями, ніж мультиспецифічні або полівалентні CAR, що містять антигензв'язуючі фрагменти, одержані зі звичайних 4-ланцюгових антитіл. Оскільки відомо, що V_HH зв'язуються з "незвичайними" епітопами, такими як западини або борозни, афінність CAR, що включають такі V_HH, може бути більш підходящою для терапевтичного застосування, ніж звичайні мультиспецифічні поліпептиди.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу sdAb є похідним від варіабельної області імуноглобуліну, виявленого у хрящової риби. Наприклад, sdAb може бути похідним від ізотипу імуноглобуліну, відомого як новий рецептор антигенів (NAR), виявлений в сироватці акули. Способи одержання однодомених молекул, які є похідними від варіабельної області NAR ("IgNAR"), описані в WO 03/014161 і в публікації Streltsov (2005) Protein Sci. 14: 2901-2909.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу sdAb є рекомбінантним, CDR-щепленим, гуманізованим, верблужим, деімунізованим і/або створеним *in vitro* (наприклад, відібраним за допомогою фагового дисплея). У деяких варіантах здійснення даного винаходу амінокислотну послідовність каркасних областей можна змінити шляхом "зверблужування" певних амінокислотних залишків в каркасних областях. "Зверблужування" відноситься до заміни або заміщення одного або більшої кількості амінокислотних залишків в амінокислотній послідовності (що зустрічається в природі) домену V_H від звичайного 4-ланцюгового антитіла одним або більшою кількістю амінокислотних залишків, які зустрічаються у відповідному положенні (положеннях) в домені V_HH антитіла важкого ланцюга. Це може бути виконано за допомогою способів відомих фахівцеві в даній галузі техніки, наприклад, згідно з подальшим описом. Такі "зверблужені" заміни переважно вставляють в положення амінокислот, які утворюють і/або присутні на внутрішній поверхні V_H-V_L, і/або на так званих характерних залишках представників верблужих, як визначено в даному документі (див., наприклад, WO 94/04678, Davies and Riechmann FEBS Letters 339: 285-290, 1994; Davies and Riechmann Protein Engineering 9 (6): 531-537, 1996; Riechmann J. Mol. Biol. 259: 957-969, 1996; і Riechmann and Muyldermans J. Immunol. Meth. 231: 25-38, 1999).

У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне sdAb є однодоменим антитілом людини, що продукується трансгенними мишами або щурами, які експресують сегменти важкого ланцюга людини. Див., наприклад, US20090307787A1, в патенті США № 8754287, US20150289489A1, US20100122358A1 і WO2004049794. У деяких варіантах здійснення даного винаходу sdAb характеризується дозрілою афінністю.

Домени V_HH, що зустрічаються в природі, проти конкретного антигену або мішені можна одержати з (наївних або імунних) бібліотек послідовностей V_HH представників сімейства верблужих. Такі способи можуть включати чи не включати скринінг такої бібліотеки із застосуванням зазначеного антигену або мішені, або щонайменше однієї частини, фрагмента, антигенної детермінанти або його епітопу за допомогою одного або більшої кількості відомих методів скринінгу. Такі бібліотеки і способи, наприклад, описані в WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 і WO 03/035694. В альтернативних варіантах можна застосовувати поліпшені синтетичні або напівсинтетичні бібліотеки, одержані з (наївних або імунних) бібліотек V_HH, таких як бібліотеки V_HH, одержані з (наївних або імунних) бібліотек V_HH, за допомогою таких методів, як випадковий мутагенез і/або перетасування CDR, як, наприклад, описано в WO 00/43507.

В деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменні антитіла одержують зі звичайних чотириланцюгових антитіл. Див., наприклад, EP 0 368 684, Ward et al. (Nature 1 989 Oct. 12; 341 (6242): 544-6), Holt et al., Trends Biotechnol., 2003 21 (11): 484-490; WO 06/030220; і WO 06/003388.

2. Антигени

Антиген(и), що є мішенню CAR з даного винаходу, є молекулами клітинної поверхні. Однодоменні антитіла можна вибрати для розпізнавання антигену, який функціонує як маркер клітинної поверхні на клітинах-мішенях, асоційованих зі специфічним захворюванням. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген (наприклад, перший антиген і/або другий антиген) є пухлинним антигеном. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічні CAR націлені на два або більшу кількість пухлинних антигенів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пухлинний антиген асоційований з В-клітинною малігнізацією. Пухлини експресують ряд білків, які можуть виступати як антиген-мішені для імунної відповіді, зокрема імунних відповідей, опосередкованих Т-клітинами. Антигенами-мішенями для CAR, можуть бути антигени, які експресуються на одній ураженій клітині, або

антигени, які експресуються на різних клітинах, кожна з яких сприяє розвитку захворювання. Антигени-мішені для CAR можуть безпосередньо або опосередковано брати участь у патогенезі захворювань.

Пухлинні антигени є білками, які продукуються пухлинними клітинами і можуть викликати імунну відповідь, зокрема імунні відповіді, опосередковувані Т-клітинами. Вибір антигену-мішені за даним винаходом буде залежати від конкретного типу раку, що підлягає лікуванню. Типові пухлинні антигени включають в себе, наприклад, гліома-асоційований антиген, карциноембріональний антиген (CEA), β -хоріонічний гонадотропін людини, альфафетопротейн (AFP), лектин-реактивний AFP, тиреоглобулін, RAGE-1, MN-CAIX, зворотну транскриптазу теломерази людини, RU1, RU2 (AS), кишкову карбоксиестеразу, mut hsp70-2, M-CSF, простазау, простатспецифічний антиген (PSA), PAP, NY-ESO-1, LAGE-Ia, p53, протейн, PSMA, HER2/neu, сурвівін і теломеразау, пухлинний антиген-1 карциноми простати (PCTA-1), MAGE, ELF2M, нейтрофільну еластазу, ефрінB2, CD22, інсуліновий фактор росту (IGF)-I, IGF-II, рецептор IGF-I і мезотелін.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пухлинний антиген містить один або більшу кількість антигенних епітопів, асоційованих із злоякісною пухлиною. Злоякісні пухлини експресують ряд білків, які можуть виступати як антигени-мішені для імунної атаки. Ці молекули включають в себе, але не обмежуються ними, тканиноспецифічні антигени, такі як MART-1, тирозиназу та gp100 при меланомі і простатичну кислоту фосфатазу (PAP) і простат-специфічний антиген (PSA) при раку передміхурової залози. Інші молекули-мішені належать до групи пов'язаних з трансформацією молекул, наприклад, онкоген HER2/Neu/ErbB-2. Ще одна група цільових антигенів – це онкофетальні антигени, такі як карциноембріональний антиген (CEA). При В-клітинній лімфомі пухлинспецифічний ідіотипний імуноглобулін є по суті пухлинспецифічним імуноглобуліновим антигеном, який є унікальним для кожної пухлини. Антигени диференціювання В-клітин, такі як CD 19, CD20 і CD37, є кандидатами для застосування як антигени-мішені при В-клітинній лімфомі.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пухлинний антиген є пухлинспецифічним антигеном (TSA) або пухлиноасоційованим антигеном (TAA). TSA є унікальним для пухлинних клітин і не зустрічається на інших клітинах в організмі. TAA-асоційований антиген не є унікальним для пухлинної клітини, а, навпаки, експресується на нормальній клітині в умовах, які не викликають стан імунологічної толерантності до антигену. Експресія антигену на пухлини може відбуватися в умовах, які дозволяють імунній системі реагувати на антиген. TAA можуть бути антигенами, які експресуються на нормальних клітинах в період розвитку плоду, коли імунна система є незрілою і нездатна реагувати, або вони можуть бути антигенами, які зазвичай присутні в надзвичайно низьких рівнях на нормальних клітинах, але які експресуються в значно більш високих рівнях на пухлинних клітинах.

Необмежуючі приклади антигенів TSA або TAA включають в себе наступне: Диференціальні антигени, такі як MART-1/MelanA (MART-I), gp 100 (Pmel 17), тирозиназа, TRP-1, TRP-2 і пухлинспецифічні мультилокальні антигени, такі як MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15; надекспресуючі ембріональні антигени, такі як CEA; надекспресуючі онкогени і мутовані гени-супресори пухлинного росту, такі як p53, Ras, HER2/neu; унікальні пухлинні антигени, що виникають в результаті хромосомних транслокацій; такі як BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR; і вірусні антигени, такі як антиген EBVA вірусу Епштейна-Барр і антигени вірусу папіломи людини (HPV) E6 і E7. Інші великі білкові антигени включають в себе TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, RAGE, NY-ESO, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, PSA, TAG-72, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17. 1, NuMa, K-ras, бета-катенін, CDK4, Mum-1, p15, p16, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, альфа-фетопротейн, бета-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3\CA 27. 29\BCAA, CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\p1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733\EpCAM, HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS 1, SDCCAG16, TA-90\Mac-2 зв'язуючий білок\C-асоційований білок циклофілін, TAAL6, TAG72, TLP і TPS.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген (такий як перший антиген і/або другий антиген) вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77.

3. Пептидні лінкери

Різні однодоменні антитіла в мультиспецифічних або полівалентних CAR, описаних в даному документі, можуть бути злиті один з одним за допомогою пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменні антитіла є злитими одне з одним безпосередньо без будь-яких пептидних лінкерів. Пептидні лінкери, що зв'язують різні однодоменні антитіла, можуть бути однаковими або різними. Різні домени CAR також можуть

бути злиті один з одним за допомогою пептидних лінкерів.

Кожен пептидний лінкер в CAR може мати однакову або різну довжину і/або послідовність в залежності від структурних і/або функціональних особливостей однодоменних антитіл і/або різних доменів. Кожен пептидний лінкер можна вибрати і оптимізувати незалежно. Довжина, ступінь гнучкості і/або інші властивості пептидного лінкера(-ів), що застосовуються в CAR, можуть чинити певний вплив на властивості, включаючи, але не обмежуючись ними, афінність, специфічність або авідність відносно одного або більшої кількості конкретних антигенів або епітопів. Наприклад, можна вибрати більш довгі пептидні лінкери щоб уникнути стеричної невідповідності між двома розташованими поруч доменами. Наприклад, в полівалентному або мультиспецифічному CAR за даним винаходом, який містить однодоменні антитіла, спрямовані проти мультимерного антигену, довжина і гнучкість пептидних лінкерів переважно такі, що дозволяють кожному однодоменному антитілу в полівалентному CAR зв'язуватися з антигенною детермінантою на кожній з субодиниць мультимера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу короткий пептидний лінкер може бути розташований між трансмембранним доменом і внутрішньоклітинним сигнальним доменом CAR. У визначеному варіанті здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить гнучкі залишки (такі як гліцин і серин), так що розташовані поруч домени вільно переміщуються один відносно одного. Наприклад, гліцин-сериновий дублет може бути придатним пептидним лінкером.

Пептидний лінкер може мати будь-яку придатну довжину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину щонайменше приблизно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75, 100 або більшу кількість амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 100, 75, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 або менше амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину від приблизно 1 амінокислоти до приблизно 10 амінокислот, від приблизно 1 амінокислоти до приблизно 20 амінокислот, від приблизно 1 амінокислоти до приблизно 30 амінокислот, від приблизно 5 амінокислот до приблизно 15 амінокислот, від приблизно 10 амінокислот до приблизно 25 амінокислот, від приблизно 5 амінокислот до приблизно 30 амінокислот, від приблизно 10 амінокислот до приблизно 30 амінокислот, від приблизно 30 амінокислот до приблизно 50 амінокислот, від приблизно 50 амінокислот до приблизно 100 амінокислот або від приблизно 1 амінокислоти до приблизно 100 амінокислот.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер може мати послідовність, що зустрічається в природі, або послідовність, що не зустрічається в природі. Наприклад, як лінкер можна застосувати послідовність, одержану з шарнірної області антитіл тільки з важким ланцюгом. Див., наприклад, WO1996/34103. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер є гнучким лінкером. Приклади гнучких лінкерів включають гліцинові полімери (G) n, гліцин-серинові полімери (включаючи, наприклад, (GS) n, (GSGGS) n, (GGGS) n, і (GGGG) n, де n є цілим числом щонайменше один), гліцин-аланінові полімери, аланін-серинові полімери та інші гнучкі лінкери, відомі в даній галузі техніки. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність GGGGS (SEQ ID NO: 144), (GGGG) 2 (SEQ ID NO: 145), (GGGS) 4 (SEQ ID NO: 146), GGGGS GGGSGGGGGSGSGGGGS (SEQ ID NO: 147), GGGSGGGGGSGGGGGSGSGGGGGSG GGGSGGGGS (SEQ ID NO: 148), (GGGG) 3 (SEQ ID NO: 149), (GGGG) 4 (SEQ ID NO: 150), або (GGGG) 3 (SEQ ID NO: 151).

45 Трансмембранний домен

CAR за даним винаходом містять трансмембранний домен, який може бути безпосередньо або опосередковано приєднаний до позаклітинного антигензв'язуючого домену. Трансмембранний домен можна одержати або з природного, або з синтетичного джерела. В даному контексті термін "трансмембранний домен" відноситься до будь-якої білкової структури, яка є термодинамічно стабільною в клітинній мембрані, переважно в мембрані еукаріотичної клітини. Трансмембранні домени, придатні для застосування в CAR, описаних в даному документі, можна одержати з природного білка. В альтернативному варіанті він може бути сегментом синтетичного білка, що не зустрічається в природі, наприклад, гідрофобним білковим сегментом, який є термодинамічно стабільним в клітинній мембрані.

Трансмембранні домени класифікуються на основі тривимірної структури трансмембранного домену. Наприклад, трансмембранні домени можуть утворювати альфа-спіраль, комплекс з більш ніж однієї альфа-спіралі, бета-барель або будь-яку іншу стабільну структуру, здатну охоплювати подвійний фосфоліпідний шар клітини. Крім того, трансмембранні домени можуть також або в альтернативному варіанті класифікуватися на основі топології трансмембранного домену, включаючи кількість проходів, які трансмембранний домен здійснює через мембрану, і

орієнтацію білка. Наприклад, однопрохідні мембранні білки один раз перетинають клітинну мембрану, а багатопрохідні мембранні білки перетинають клітинну мембрану щонайменше двічі (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6, 7 або більшу кількість разів). Мембранні білки можуть бути визначені як тип I, тип II або тип III в залежності від топології їх кінців і сегмента(ів), що проходять через мембрану, відносно внутрішньої і зовнішньої поверхні клітини. Мембранні білки типу I мають одну трансмембранну область і орієнтовані так, що N-кінець білка знаходиться на позаклітинній стороні подвійного ліпідного шару клітини, а C-кінець білка знаходиться на цитоплазматичній стороні. Мембранні білки типу II також мають одну трансмембранну область, але вони орієнтовані так, що C-кінець білка знаходиться на позаклітинній стороні подвійного ліпідного шару клітини, а N-кінець білка знаходиться на цитоплазматичній стороні. Мембранні білки типу III мають множинну трансмембранних сегментів і можуть бути додатково підкласифіковані на основі кількості трансмембранних сегментів і розташування N- і C-залишків.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен CAR, описаний в даному документі, є похідним від однопрохідного мембранного білка типу I. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранні домени, які є похідними від багатопрохідних мембранних білків, також можуть бути придатними для застосування в CAR, описаних в даному документі. Багатопрохідні мембранні білки можуть містити складні (щонайменше 2, 3, 4, 5, 6, 7 чи більше) альфа-спіралі або структуру бета-листа. Переважно, щоб N-кінець і C-кінець багатопрохідного мембранного білка були присутні на протилежних сторонах подвійного ліпідного шару, наприклад, N-кінець білка присутній на цитоплазматичній стороні подвійного ліпідного шару, а C-кінець білка присутній на позаклітинній стороні.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен CAR містить трансмембранний домен, вибраний з групи, що складається з трансмембранного домену альфа-, бета- або дзета-ланцюга рецептора T-клітини, CD28, CD3 епсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRFI), CD160, CD19, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R а, ITGA1, 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, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY 55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, i/або NKG2C. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен є похідним від CD28. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен є трансмембранним доменом CD28, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 133. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен CD28 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 135.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен є похідним від CD8α. У деяких варіантах здійснення даного винаходу є трансмембранний домен CD8α, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен CD8α кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 134.

Трансмембранні домени, придатні для застосування в CAR, описаних в даному документі, можуть також містити щонайменше частину сегменту синтетичного білка, що не зустрічається в природі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен є синтетичною альфа-спіраллю або бета-листом, що не зустрічаються в природі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу білковий сегмент становить щонайменше приблизно 20 амінокислот, наприклад, щонайменше 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 або більшу кількість амінокислот. Приклади синтетичних трансмембранних доменів відомі в даній галузі техніки, наприклад, описані в патенті США № 7052906 B1 і публікації PCT Publication № WO 2000/032776 A2, відповідні описи яких включені в цей документ за допомогою посилання.

Трансмембранний домен може містити трансмембранну область і цитоплазматичну область, розташовану на C-кінцевій стороні трансмембранного домену. Цитоплазматична область трансмембранного домену може містити три або більшу кількість амінокислот і, в деяких варіантах здійснення, допомагає орієнтувати трансмембранний домен в подвійному ліпідному шарі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу в трансмембранній області трансмембранного домену присутні один або більша кількість залишків цистеїну. У деяких

варіантах здійснення даного винаходу в цитоплазматичній області трансмембранного домену присутні один або більша кількість залишків цистеїну. У деяких варіантах здійснення даного винаходу цитоплазматична область трансмембранного домену містить позитивно заряджені амінокислоти. У деяких варіантах здійснення даного винаходу цитоплазматична область трансмембранного домену містить амінокислоти аргінін, серин і лізин.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранна область трансмембранного домену містить гідрофобні амінокислотні залишки. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен CAR містить штучну гідрофобну послідовність. Наприклад, триплет фенілаланіну, триптофану і валіну може бути присутнім на С-кінці трансмембранного домену. В деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранна область містить в основному гідрофобні амінокислотні залишки, такі як аланін, лейцин, ізолейцин, метіонін, фенілаланін, триптофан або валін. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранна область є гідрофобною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранна область містить полі-лейцин-аланінову послідовність. Гідрофобність, або гідрофобні або гідрофільні властивості білка або білкового сегмента можна оцінити за допомогою будь-якого способу, відомого в даній галузі техніки, наприклад, за допомогою аналізу гідрофобності Kyte і Doolittle.

Внутрішньоклітинний сигнальний домен

CAR за даним винаходом містять внутрішньоклітинний сигнальний домен. Внутрішньоклітинний сигнальний домен відповідає за активацію щонайменше однієї з нормальних ефекторних функцій імунної ефекторної клітини, що експресує CAR. Термін "ефекторна функція" відноситься до спеціалізованої функції клітини. Ефекторною функцією Т-клітини, наприклад, може бути цитолітична активність або хелперна активність, включаючи секрецію цитокінів. Таким чином, термін "цитоплазматична сигнальна область" відноситься до частини білка, яка трансдукує сигнал ефекторної функції і спрямовує клітину для виконання спеціалізованої функції. Незважаючи на те, що зазвичай може застосовуватися весь цитоплазматичний сигнальний домен, у багатьох випадках немає необхідності застосовувати весь ланцюг. Тією ж мірою, в якій застосовується усічена частина цитоплазматичного сигнального домену, така усічена частина може застосовуватися замість інтактного ланцюга до тих пір, поки вона трансдукує сигнал ефекторної функції. Таким чином, термін "цитоплазматичний сигнальний домен" включає будь-яку усічену частину домену цитоплазматичної сигналізації, достатню для трансдукції сигналу ефекторної функції.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR містить внутрішньоклітинний сигнальний домен, що містить по суті первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини. Термін "первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен" відноситься до цитоплазматичної сигнальної послідовності, яка функціонує стимулюючим чином для індукування імунних ефекторних функцій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить сигнальний мотив, відомий як імунорецепторний тирозиновий активуючий мотив, або ITAM. В даному контексті "ITAM" є консервативним білковим мотивом, який зазвичай присутній в хвостовій частині сигнальних молекул, що експресуються у багатьох імунних клітинах. Мотив може містити два повтори амінокислотної послідовності YxxL/I, розділених 6-8 амінокислотами, при цьому кожен x незалежно є будь-якою амінокислотою, яка продукує консервативний мотив YxxL/Ix (6-8) YxxL/I. ITAM в сигнальних молекулах важливі для сигнальної трансдукції всередині клітини, яка опосередковується, щонайменше частково, фосфорилуванням залишків тирозину в ITAM після активації сигнальної молекули. ITAM можуть також функціонувати як ділянки стикування для інших білків, що беруть участь в сигнальних шляхах. Типові ITAM-вмісні первинні цитоплазматичні сигнальні послідовності включають в себе ті, які є похідними від CD3 ζ , FcR-гамма (FCER1G), FcR-бета (Fc Епсилон Rib), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-Епсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79b і CD66d.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є цитоплазматичним сигнальним доменом дикого типу CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен дикого типу CD3 ζ містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 140. У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен дикого типу CD3 ζ кодується нуклеїновою кислотою SEQ ID NO: 142. У деяких варіантах здійснення даного винаходу

первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є функціональним мутантом цитоплазматичного сигнального домену CD3 ζ , що містить одну або декілька мутацій, таких як Q65K. У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен мутантного CD3 ζ містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 141. У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен мутантного CD3 ζ_L кодується нуклеїновою кислотою SEQ ID NO: 143.

Спів-стимулюючий сигнальний домен

Багато імунних ефекторних клітин потребують спів-стимуляції, крім стимуляції антигенспецифічного сигналу, для індукування проліферації, диференціювання і виживання клітин, а також для активації ефекторних функцій клітини. Здійснення даного винаходу CAR містить щонайменше один спів-стимулюючий сигнальний домен. В даному контексті термін "спів-стимулюючий сигнальний домен" відноситься щонайменше до частини білка, яка опосередковує трансдукцію сигналу всередині клітини, щоб індукувати імунну відповідь, наприклад, ефекторну функцію. Спів-стимулюючий сигнальний домен химерного рецептора, описаний в даному документі, може бути цитоплазматичним сигнальним доменом зі спів-стимулюючого білка, який трансдукує сигнал і модулює реакції, опосередковані імунними клітинами, такими як Т-клітини, НК-клітини, макрофаги, нейтрофіли або еозинофіли. "Спів-стимулюючий сигнальний домен" може бути цитоплазматичною частиною спів-стимулюючої молекули. Термін "спів-стимулююча молекула" відноситься до родинного зв'язуючого партнера в імунній клітині (такого як Т-клітина), що специфічно зв'язується зі спів-стимулюючим лігандом, тим самим опосередковуючи спів-стимулюючу відповідь імунною клітиною, таку як, але не обмежуючись цим, проліферація і виживання.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить один спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить два або більшу кількість (наприклад, 2, 3, 4 або більше) спів-стимулюючих сигнальних доменів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить два або більшу кількість однакових спів-стимулюючих сигнальних доменів, наприклад, дві копії спів-стимулюючого сигнального домену CD28. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить два або більшу кількість спів-стимулюючих сигнальних доменів з різних спів-стимулюючих білків, таких як будь-які два або більша кількість спів-стимулюючих білків, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен (такий як цитоплазматичний сигнальний домен CD3 ζ) і один або більшу кількість спів-стимулюючих сигнальних доменів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу один або більша кількість спів-стимулюючих сигнальних доменів і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен (такий як цитоплазматичний сигнальний домен CD3 ζ) є злитими один з одним за допомогою необов'язкових пептидних лінкерів. Первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен і один або більша кількість спів-стимулюючих сигнальних доменів можуть бути розташовані в будь-якому придатному порядку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу один або більша кількість спів-стимулюючих сигнальних доменів розташовані між трансмембранним доменом і первинним внутрішньоклітинним сигнальним доменом (таким як домен цитоплазматичної сигналізації CD3 ζ). Безліч спів-стимулюючих сигнальних доменів можуть надавати адитивні або синергічні стимулюючі ефекти.

Активація спів-стимулюючого сигнального домену в клітині-господарі (наприклад, в імунній клітині) може індукувати клітину до підвищення або зниження продукування і секреції цитокінів, фагоцитарні властивості, проліферацію, диференціювання, виживання і/або цитотоксичність. Спів-стимулюючий сигнальний домен будь-якої спів-стимулюючої молекули може бути сумісний для застосування в CAR, описаних в даному документі. Тип(и) спів-стимулюючого сигнального домену вибирають на основі таких факторів, як тип імунних ефекторних клітин, в яких будуть експресуватися ефекторні молекули (наприклад, Т-клітини, НК-клітини, макрофаги, нейтрофіли або еозинофіли), і бажаної імунної ефекторної функції (наприклад, ефект ADCC). Прикладами спів-стимулюючих сигнальних доменів для застосування в CAR можуть бути цитоплазматична сигнальна область спів-стимулюючих білків, включаючи, але не обмежуючись, представників сімейства B7/CD28 (наприклад, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, Gi24/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD-1, PD-L2/B7-DC, і PDCD6); представників суперсімейства TNF (наприклад, 4 1BB/TNFSF9/CD137, 4-1BB ліганд/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, CD27 ліганд/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, CD30 ліганд/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, CD40/TNFSF5, CD40 ліганд/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, GITR ліганд/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14,

LIGHT/TNFSF14, лімфотоксин-альфа/TNF-бета, OX40/TNFRSF4, OX40 ліганд/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-альфа, і TNF RII/TNFRSF1B); представники сімейства SLAM (наприклад, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, і SLAM/CD150); і будь-які інші стимулюючі молекули, такі як CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thy1, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, HLA Class I, HLA-DR, ікарос, інтегрин альфа 4/CD49d, інтегрин альфа 4 бета 1, інтегрин альфа 4 бета 7/LPAM-1, LAG-3, TCL1A, TCL1B, CRTAM, DAP12, дектин-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, лімфоцитарний функціональний антиген-1 (LFA-1), а також NKG2C.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу один або більшу кількість спів-стимулюючих сигнальних доменів вибирають з групи, що складається з CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, CD3, лімфоцитарного функціонального антигену-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 і лігандів, які специфічно зв'язуються з CD83.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен CAR за даним винаходом містить спів-стимулюючий сигнальний домен, похідний від CD28. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ і спів-стимулюючий сигнальний домен CD28. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен CD28, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 136. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен CD28 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 138. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 228.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен CAR за даним винаходом містить спів-стимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137 (тобто, 4-1BB). У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ і спів-стимулюючий сигнальний домен CD137. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен CD137, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 137. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен CD137 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 139.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен CAR за даним винаходом містить спів-стимулюючий сигнальний домен CD28 і спів-стимулюючий сигнальний домен CD137. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ, спів-стимулюючий сигнальний домен CD28 і спів-стимулюючий сигнальний домен CD137. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить поліпептид, що містить від N-кінця до C-кінця: спів-стимулюючий сигнальний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен CD137 і цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен CD28, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 136. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен CD28 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 138. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен CD137, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 137. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен CD137 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 139.

Крім того, в межах обсягу даного винаходу пропонуються варіанти будь-якого з спів-стимулюючих сигнальних доменів, описані в даному документі, що забезпечують модулювання спів-стимулюючим сигнальним доменом імунної відповіді імунної клітини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен містить до 10 амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 8) в порівнянні з аналогом дикого типу. Такі спів-стимулюючі сигнальні домени, які містять один або декілька змін амінокислот, можуть згадуватися як варіанти. Мутація амінокислотних залишків спів-стимулюючого сигнального домену може призводити до підвищення трансдукції сигналів і посилення стимуляції імунних відповідей в порівнянні зі спів-стимулюючими сигнальними доменами, які не містять мутації. Мутація амінокислотних залишків спів-стимулюючого сигнального домену може призводити до зниження трансдукції сигналів і ослаблення стимуляції імунних відповідей в порівнянні зі спів-стимулюючими сигнальними доменами, які не містять мутації.

Шарнірна область

CAR за даним винаходом можуть містити шарнірний домен, який розташований між позаклітинним антигензв'язуючим доменом і трансмембранним доменом. Шарнірний домен є сегментом амінокислот, який зазвичай знаходиться між двома доменами білка і може забезпечувати гнучкість білка і переміщення одного або обох доменів один відносно одного.

5 Можна застосовувати будь-яку амінокислотну послідовність, яка забезпечує таку гнучкість і переміщення позаклітинного антигензв'язуючого домену відносно трансмембранного домену ефекторної молекули.

Шарнірний домен може містити приблизно 10-100 амінокислот, наприклад, будь-яку кількість з 15-75 амінокислот, 20-50 амінокислот або 30-60 амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен може мати довжину щонайменше приблизно 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 або 75 амінокислот.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен є шарнірним доменом білка, що зустрічається в природі. Шарнірні домени будь-якого білка, відомі в даній галузі техніки, включають шарнірний домен, який є придатним для застосування в описаних в даному документі химерних рецепторах. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен є щонайменше частиною шарнірного домену білка, зустрічається в природі, і забезпечує гнучкість для химерного рецептора. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен є похідним від CD8 α . У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен є частиною шарнірного домену CD8 α , наприклад, фрагментом, що містить щонайменше 15 (наприклад, 20, 25, 30, 35 або 40) послідовних амінокислот шарнірного домену CD8 α . У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен CD8 α містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 130. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен CD8 α кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 131.

Шарнірні домени антитіл, таких як антитіла IgG, IgA, IgM, IgE або IgD, також є придатними для застосування в рН-залежних химерних рецепторних системах, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен шарнірним доменом, який сполучає константні домени CH1 і CH2 антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен є доменом антитіла і містить шарнірний домен антитіла і одну або декілька константних областей антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен містить шарнірний домен антитіла і константну область CH3 антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен містить шарнірний домен антитіла і константні області CH2 і CH3 антитіла. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло є антитілом IgG, IgA, IgM, IgE або IgD. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло є антитілом IgG. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло є антитілом IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірна область містить шарнірну область і константні області CH2 і CH3 антитіла IgG1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірна область містить шарнірну область і константну область CH3 антитіла IgG1.

Пептиди, що не зустрічаються в природі, також можуть застосовуватися як шарнірні домени для химерних рецепторів, описані в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу шарнірний домен між С-кінцем позаклітинного лігандзв'язуючого домену Fc-рецептора і N-кінцем трансмембранного домену є пептидний лінкер, такий як (GxS) n-лінкер, де x і n незалежно можуть являти собою ціле число від 3 до 12, включаючи 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 і більше.

Сигнальний пептид

CAR за даним винаходом може містити сигнальний пептид (також відомий як сигнальна послідовність) на N-кінці поліпептиду. Як правило, сигнальні пептиди представляють собою послідовності пептидів, які націлюють поліпептид на необхідну ділянку в клітині. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид націлює ефекторну молекулу на секреторний шлях клітини і забезпечує інтеграцію і закріплення ефекторних молекули в подвійному ліпідному шарі. Сигнальні пептиди, включаючи сигнальні послідовності природних або синтетичних білків, сигнальні послідовності, що не зустрічаються в природі, які придатні для застосування в CAR, описаних в даному документі, будуть знайомі фахівцеві в даній галузі техніки. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8 α , ГМКСФ-рецептора α і важкого ланцюга IgG1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид є похідним від CD8 α . У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид CD8 α містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 127. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сигнальний пептид CD8 α кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 128 або SEQ ID NO: 129.

IV. Сконструйовані імунні ефекторні клітини.

Додатково в даному винаході пропонуються клітини-господарі (наприклад, імунні ефекторні клітини), що містять будь-який з CAR, описаних в даному документі.

Таким чином, в деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний рецептор антигенів (CAR), який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з першим антигеном (таким як перший пухлинний антиген), і друге однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з другим антигеном (таким як в другий пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший антиген відрізняється від другого антигену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген і/або другий антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить BCMA \times CD38 CAR, який містить поліпептид, що включає в себе: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-BCMA і однодоменне антитіло анти-CD38; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb і/або анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA і однодоменне

антитіло анти-CD38 є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є злитим з анти-CD38 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є злитим з анти-CD38 sdAb на C-кінці. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу одностороннє антитіло анти-BCMA містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29. У деяких варіантах реалізації винаходу антитіло анти-CD38 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 207-216. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить CD19 \times CD20 CAR, який містить поліпептид, що включає в себе: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить одностороннє антитіло анти-CD19 і одностороннє антитіло анти-CD20; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу одностороннє антитіло анти-CD20 і одностороннє антитіло анти-CD20 є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 є злитим з анти-CD20 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-CD20 sdAb на C-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення

даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 × CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 × CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деякі правила х варіантах здійснення даного винаходу CD19 × CD20 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 206. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, NK-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить CD19×CD22 CAR, який містить поліпептид, що включає в себе: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-CD19 і однодоменне антитіло анти-CD22; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-CD22 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло анти-CD22 і друге однодоменне антитіло анти-CD22 є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-CD22 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-CD22 sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. В деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×CD22 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×CD22 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючих сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У

деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, NK-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить CD19×BCMA CAR, який містить поліпептид, що включає в себе: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-CD19 і однодоменне антитіло анти-BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-BCMA sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA і однодоменне антитіло анти-BCMA є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-BCMA sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-BCMA sdAb на C-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19×BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, NK-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить полівалентний химерний рецептор антигенів, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину однодоменних антитіл (sdAb), специфічно зв'язуються з антигеном (таким як пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу безліч sdAb є верблужими, химерними, людськими або гуманізованими. У деяких

варіантах здійснення даного винаходу множина однодомених антитіл є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR є мультиспецифічним, наприклад, біспецифічним. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 198-201.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефektorна клітина (така як Т-клітина), що містить полівалентний химерний рецептор антигенів, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з першим епітопом антигену (такого як пухлинний антиген), і друге однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з другим епітопом антигену; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу першого однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефektorна клітина є Т-клітиною, NK-

клітиною, моноклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить CD19 химерний рецептор антигенів, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD19 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD19 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2 і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 248. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, NK-клітиною, моноклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить CD20 CAR, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD20 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD20 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb додатково містить FR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 244, FR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 245, FR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 246, та/або FR4, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 247. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем

трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 249. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, моноклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (така як Т-клітина), що містить BCMA CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів:

(12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

(13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

(14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

(15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

(17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34;

(18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

(19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

(20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

(21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

(22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий

сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-162. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів:

(13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;

(14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65;

(15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66;

(16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

(17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

(18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

(19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70;

(20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

(21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

(22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

(24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить домен V_H , що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , анти-CD38 sdAb, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується CD38 CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 163-174. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефektorна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефektorна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефektorна клітина є аллогенною.

У даному винаході також пропонуються сконструйовані імунні ефektorні клітини, що містять (або експресують) два або більшу кількість різних CAR. Будь-які два або більшу кількість з CAR, описаним в даному документі, можуть експресовані в комбінації. CAR можуть націлюватися на різні антигени, тим самим забезпечуючи синергічні або адитивні ефекти. Оскільки однодоменні антитіла в позаклітинних антигензв'язуючих доменах CAR мають тільки окремі варіабельні ланцюги антигену (наприклад, важкі ланцюги), такі CAR-експресуючі клітини не мають проблем з помилковим спарюванням варіабельних ланцюгів, що продемонстровано в сконструйованих імунних ефektorних клітинах, які спів-експресують два або більшу кількість CAR на основі scFv. Типові сконструйовані імунні ефektorні клітини, які спів-експресують два CAR на основі V_H , проілюстровані на ФІГ. 1Е. Фахівцеві в даній галузі техніки буде зрозуміло, що CAR на основі інших sdAb або мають інші структури, як описано в даному документі, можуть бути спів-експресовані в сконструйованих імунних ефektorних клітинах. два або більшу кількість CAR можуть бути закодовані на одному і тому ж векторі або на різних векторах.

Сконструйована імунна ефektorна клітина може додатково експресувати один або більшу кількість терапевтичних білків і/або імуномодуляторів, таких як інгібітори імунної контрольної точки. Див., наприклад, міжнародну заявку на патент №№ PCT/CN2016/073489 та PCT/CN2016/087855, які включені в даний документ за допомогою посилання в повному обсязі.

Вектори

В одному аспекті даного винаходу пропонуються вектори для клонування і експресії будь-якого одного з CAR, описаних в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є придатним для реплікації і інтеграції в клітинах, таких як клітини ссавців. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор є вірусним вектором. Приклади векторів включають в себе, але не обмежуються ними, аденовірусні вектори, аденоасоційовані вірусні вектори, лентівірусний вектор, ретровірусні вектори, вектор вірусу вісповакцини, герпесвірусний вектор і їх похідні. Технологія вірусних векторів добре відома в даній галузі техніки і описана,

наприклад, у посібнику Sambrook et al. (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York), і в інших посібниках з вірусології та молекулярної біології.

Розроблено ряд вірусних систем для перенесення генів у клітини ссавців. Наприклад, ретровіруси забезпечують зручну платформу для систем доставки генів. Гетерологічні нуклеїнові кислоти можна вставити у вектор і упакувати в ретровірусні частинки за допомогою методів, відомих в даній галузі техніки. Рекомбінантний вірус потім можна виділити і помістити в сконструйовану клітину ссавця *in vitro* або *ex vivo*. У даній галузі техніки відомий ряд ретровірусних систем. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовують аденовірусні вектори. У даній галузі техніки відомий ряд аденовірусних векторів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовують лентівірусні вектори. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовують самоінактивуючі лентівірусні вектори. Наприклад, самоінактивуючі лентівірусні вектори, що несуть послідовність, яка кодує імуномодулятор (наприклад, інгібітор імунної контрольної точки), і/або самоінактивуючі лентівірусні вектори, що несуть химерні рецептори антигенів, можуть бути упаковані згідно з протоколами, відомим в даній галузі техніки. Одержані лентівірусні вектори можна застосовувати для трансдукції клітини ссавців (наприклад, первинних Т-клітин людини) за допомогою способів, відомих в даній галузі техніки. Вектори, одержані з ретровірусів, таких як лентівірус, є придатними інструментами для досягнення тривалого перенесення генів, оскільки вони забезпечують тривалу стабільну інтеграцію трансгену і його поширення в клітинах потомства. Лентівірусні вектори також мають низьку імуногенність і можуть трансдукувати непроліферуючі клітини.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують CAR, описаний в даному документі. Нуклеїнові кислоти можна клонувати у вектор за допомогою будь-яких способів молекулярного клонування, відомих в даній галузі техніки, включаючи, наприклад, застосування ділянок рестрикційної ендонуклеази і одного або більшої кількості селектованих маркерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота є функціонально зв'язаною з промотором. Різновиди промоторів проаналізовані стосовно експресії генів в клітинах ссавців, і будь-який з промоторів, відомих в даній галузі техніки, можна застосовувати в даному винаході. Промотори можуть бути класифіковані на конститутивні промотори або регульовані промотори, такі як індуковані промотори.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота, що кодує CAR, є функціонально зв'язаною з конститутивним промотором. Конститутивні промотори дозволяють гетерологічним генам (що також називаються трансгенами) конститутивно експресуватися в клітинах-господарях. Типові конститутивні промотори, що розглядаються в даному документі, включають в себе, але не обмежуються ними, промотори цитомегаловірусу (CMV), фактори елонгації-1 α людини (hEF1 α), промотор убіквітину С (UbiC), промотор фосфогліцерокінази (PGK), ранній промотор вірусу 40 мавп (SV40) і промотор β -актину курей в поєднанні з раннім ехансером CMV (CAGG). Ефективність таких конститутивних промоторів на стимулювання трансгенної експресії детально порівнювалася в множині досліджень. Наприклад, Michael C. Milone et al порівнювали ефективність CMV, hEF1 α , UbiC і PGK з метою стимулювання експресії химерного антигенного рецептора в первинних Т-клітинах людини і прийшли до висновку, що промотор hEF1 α не тільки індукував найвищий рівень експресії трансгену, але також оптимально підтримувався в Т клітинах CD4 і CD8 людини (*Molecular Therapy*, 17 (8): 1453-1464 (2009)). У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота, що кодує CAR, є функціонально зв'язаною з промотором hEF1 α .

У деяких варіантах здійснення даного винаходу нуклеїнова кислота, що кодує CAR, є функціонально зв'язаною з індукованим промотором. Індуковані промотори відносяться до категорії регульованих промоторів. Індукований промотор може індукуватись одним або більшою кількістю станів, таких як фізичний стан, мікрооточення сконструйованої імунної ефекторної клітини або фізіологічний стан сконструйованої імунної ефекторної клітини, індуктором (тобто, індукуючим агентом) або їх комбінацією. У деяких варіантах здійснення даного винаходу індукуючий стан не індукуює експресію ендогенних генів в сконструйованій клітині ссавців і/або у суб'єкта, який отримує фармацевтичну композицію. У деяких варіантах здійснення даного винаходу індукуючий стан вибирають з групи, що складається з: індуктора, опромінення (наприклад, іонізуюче випромінювання, світло), температури (наприклад, тепло), окислювально-відновних умов, мікрооточення пухлини і стану активації сконструйованої клітини ссавців.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор також містить селектований маркерний ген або репортерний ген для відбору клітин, що експресують CAR, з популяції клітин-господарів, трансфікованих за допомогою лентівірусних векторів. Як селектовані маркери, так і

репортерні гени можуть бути фланковані відповідними регуляторними послідовностями з метою забезпечення експресії в клітинах-господарях. Наприклад, вектор може містити транскрипційні і трансляційні термінатори, послідовності ініціації і промотори, придатні для регуляції експресії послідовностей нуклеїнових кислот.

5 У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор містить більш ніж одну нуклеїнову кислоту, яка кодує CAR. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор містить нуклеїнову кислоту, яка містить послідовність першої нуклеїнової кислоти, що кодує перший CAR, і послідовність другої нуклеїнової кислоти, що кодує другий CAR, при цьому перша нуклеїнова кислота є функціонально зв'язаною з другою нуклеїновою кислотою за допомогою
10 послідовності третьої нуклеїнової кислоти, яка кодує саморозщеплюваний пептид. У деяких варіантах здійснення даного винаходу саморозщеплюваний пептид вибирають з групи, що складається з T2A, P2A і F2A. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептид T2A має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 254. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептид T2A кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 255. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує BCMA CAR і CD38 CAR, і містить послідовність нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 239.

Імунні ефекторні клітини

"Імунні ефекторні клітини" є імунними клітинами, які можуть виконувати імунні ефекторні функції. У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунні ефекторні клітини експресують щонайменше FcγRIII і виконують ефекторну функцію ADCC. Приклади імунних ефекторних клітин, які опосередковують ADCC, включають в себе мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК), природні клітини-кілери (NK), моноцити, цитотоксичні Т-клітини і нейтрофіли, а також еозинофіли.
20

У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунні ефекторні клітини є Т-клітинами. У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітинами є CD4+/CD8-, CD4-/CD8+, CD4+/CD8+, CD4-/CD8- або їх комбінації. У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини продукують IL-2, TFN, і/або TNF під час експресії CAR і зв'язування з клітинами-мішенями, такими як пухлинні клітини CD20+ або CD19+. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD8+ Т-клітини лізують антигенспецифічні клітини-мішені під час експресії CAR і зв'язування з клітинами-мішенями.
25 30

У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунні ефекторні клітини є NK-клітинами. В інших варіантах здійснення даного винаходу імунні ефекторні клітини можуть бути широко відомими лініями клітин, наприклад, клітин NK-92.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу імунні ефекторні клітини є диференційованими від стовбурових клітин, таких як гемопоетична стовбурова клітина, стовбурова клітина, iPS або ембріональна стовбурова клітина.
35

Сконструйовані імунні ефекторні клітини одержують шляхом введення CAR в імунні ефекторні клітини, такі як Т-клітини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR вводять в імунні ефекторні клітини шляхом трансфекції будь-якої з виділених нуклеїнових кислот або будь-якого з векторів, описаних в розділі III. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CAR вводять в імунні ефекторні клітини шляхом введення білків в клітинну мембрану при проходженні клітин через мікрорідинну систему, таку як CELL SQUEEZE® (див., наприклад, в публікації патентної заявки США № 20140287509).
40

Способи введення векторів або виділених нуклеїнових кислот в клітини ссавців добре відомі в даній галузі техніки. Описані вектори можна переносити в імунну ефекторну клітину за допомогою фізичних, хімічних або біологічних методів.
45

Фізичні способи введення вектора в імунну ефекторну клітину включають в себе осадження фосфатом кальцію, ліпофекцію, бомбардування частинками, мікроін'єкцію, електропорацію тощо. Способи продукування клітин, що містять вектори і/або екзогенні нуклеїнові кислоти, добре відомі в даній галузі техніки. Див., наприклад, Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. У деяких варіантах здійснення даного винаходу вектор вводять в клітину за допомогою електропорації.
50

Біологічні способи введення вектора в імунну ефекторну клітину включають в себе застосування ДНК- та РНК-векторів. Вірусні вектори стали найбільш широко застосовуваною системою для вставки генів в клітини ссавців, наприклад, клітини людини.
55

Хімічні способи для введення вектора в імунну ефекторну клітину включають в себе колоїдні дисперсійні системи, такі як комплекси макромолекул, нанокапсули, мікросфери, гранули та системи на основі ліпідів, включаючи емульсії масло-в-воді, міцели, змішані міцели, а також ліпосоми. Типова колоїдна система для застосування як несуче середовище для доставки in vitro є ліпосомою (наприклад, штучна мембранна везикула).
60

У деяких варіантах здійснення даного винаходу молекули РНК, що кодують будь-який з CAR, описаних в даному документі, можуть бути одержані за допомогою звичайних способів (наприклад, за допомогою транскрипції *in vitro*), а потім введені в імунні ефекторні клітини за допомогою відомих способів, таких як електропорація мРНК. Див., наприклад, Rabinovich et al., Human Gene Therapy 17: 1027-1035.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансдукована або трансфікована імунна ефекторна клітина розмножується *ex vivo* після введення вектора або виділеної нуклеїнової кислоти. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансдукована або трансфікована імунна ефекторна клітина культивується для розмноження щонайменше протягом приблизно 1 дня, 2 днів, 3 днів, 4 днів, 5 днів, 6 днів, 7 днів, 10 днів, 12 днів або 14 днів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансдуковану або трансфіковану імунну ефекторну клітину додатково оцінюють або скринують, щоб вибрати сконструйовану клітину ссавця.

Репортерні гени можна застосовувати для ідентифікації потенційно трансфікованих клітин і для оцінки функціональності регуляторних послідовностей. У більшості випадків, репортерний ген є геном, який не присутній або не експресується організмом-реципієнтом або тканиною, і який кодує поліпептид, експресія якого підтверджується визначеною властивістю, що легко виявляється, наприклад, ферментною активністю. Експресію репортерного гена аналізують у відповідний час після введення ДНК в клітини-реципієнти. Придатні репортерні гени можуть включати в себе гени, що кодують люциферазу, бета-галактозидазу, хлорамфеніколацетилтрансферазу, секретовану лужну фосфатазу або ген зеленого флуоресцентного білка (наприклад, Ui-Tei et al. FEBS Letters 479: 79-82 (2000)). Придатні системи експресії є добре відомими і можуть бути приготовані за допомогою відомих способів або одержані на комерційних умовах.

Інші способи підтвердження наявності нуклеїнової кислоти, що кодує CAR в сконструйованій імунній ефекторній клітині, включають в себе, наприклад, молекулярно-біологічні аналізи, добре відомі фахівцям в даній галузі техніки, такі як саузерн- і нозерн-блот, ОТ-ПЛР і ПЛР; біохімічні аналізи, такі як виявлення наявності або відсутності конкретного пептиду, наприклад, за допомогою імунологічних методів (таких як ELISA і вестерн-блот).

1. Джерела Т-клітин

До розмноження і генетичної модифікації Т-клітин джерело Т-клітин одержують від індивідуума. Т-клітини можуть бути одержані з різних джерел, включаючи мононуклеарні клітини периферичної крові, кістковий мозок, тканину лімфатичних вузлів, пуповинну кров, тканину тимусу, тканину з ділянки інфекції, асцитичну рідину, плевральний випіт, тканину селезінки, а також пухлини. У деяких варіантах здійснення даного винаходу можна застосовувати будь-яку кількість ліній Т-клітин, доступних в даній галузі техніки. У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини можна одержати зі зразка крові, зібраної у суб'єкта, за допомогою будь-якої кількості методів, відомих фахівцям в даній галузі техніки, таких як поділ Ficoll™. У деяких варіантах здійснення даного винаходу клітини з циркулюючої крові індивідуума одержують шляхом аферезу. Як правило, продукт аферезу зазвичай містить лімфоцити, включаючи Т-клітини, моноцити, гранулоцити, В-клітини, інші ядерні лейкоцити, еритроцити і тромбоцити. У деяких варіантах здійснення даного винаходу клітини, одержані з допомогою аферезу, можна промити для видалення фракції плазми і помістити клітини у відповідний буфер або середовище для проведення подальших етапів обробки. У деяких варіантах здійснення даного винаходу клітини промивають фізіологічним розчином, який забуферений фосфатом (PBS). У деяких варіантах здійснення даного винаходу в промивальному розчині відсутній кальцій і може бути відсутнім магній або можуть бути відсутні багато, якщо не всі, двовалентні катіони. Крім того, несподівано було виявлено, що на початкових етапах активації під час відсутності кальцію спостерігається посилена активація. Фахівцям в даній галузі техніки буде чітко зрозуміло, що етап промивання можна виконати за допомогою способів, відомих фахівцям в даній галузі техніки, таких як застосування напівавтоматичної "проточної" центрифуги (наприклад, пристрій для обробки клітин Cobe 2991, Baxter CytoMate або Haemonetics Cell Saver 5) згідно з інструкціями виробника. Після промивання клітини можна ресуспендувати в різних біосумісних буферах, таких як, наприклад, PBS, який не містить Ca^{2+} , Mg^{2+} -PlasmaLyte A або інший сольовий розчин з буфером або без нього. В альтернативному варіанті небажані компоненти зразка аферезу можна видалити, а клітини безпосередньо ресуспендувати в культуральному середовищі.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини виділяють з лімфоцитів периферичної крові шляхом лізису еритроцитів і виснаження моноцитів, наприклад, за допомогою центрифугування за допомогою градієнта PERCOLL™ або протипотокового елютріаційного центрифугування. Крім того, специфічну субпопуляцію Т-клітин, таку як CD3+,

CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ і CD45RO+ Т-клітини, можна виділити за допомогою сортування шляхом позитивного або негативного відбору. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини виділяють шляхом інкубації з анти-CD3/анти-CD28 (тобто 3×28) - кон'югованих гранул, таких як DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 Т, протягом періоду часу, достатнього для позитивного відбору необхідних Т-клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу період часу становить приблизно 30 хвилин. У подальшому варіанті здійснення даного винаходу період часу становить від 30 хвилин до 36 годин або довше і включає всі цілі значення між ними. У подальшому варіанті здійснення даного винаходу період часу становить щонайменше 1, 2, 3, 4, 5 або 6 годин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу період часу становить від 10 до 24 годин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу період інкубації становить 24 години. При виділенні Т-клітин у пацієнтів з лейкозом застосування більш тривалих періодів інкубації, наприклад, 24 години, може збільшити кількість одержуваних клітин. Довший час інкубації можна застосовувати для виділення Т-клітин в тому випадку, коли є невелика кількість Т-клітин в порівнянні з іншими типами клітин, наприклад, при виділенні лімфоцитів, які інфільтрують пухлину (TIL), з пухлинної тканини або у індивідуумів з ослабленим імунітетом. Крім того, застосування більш тривалих періодів інкубації може підвищити ефективність захоплення CD8+ Т-клітин. Таким чином, шляхом простого скорочення або подовження періоду часу, протягом якого Т-клітини можуть зв'язуватися з гранулами CD3/CD28, і/або шляхом збільшення або зменшення співвідношення гранул до Т-клітин (як зазначено в даному документі), субпопуляції Т-клітин можуть бути переважно вибрані під час або впритул за часом до закладки культури або в інші моменти часу під час процесу. Крім того, шляхом збільшення або зменшення співвідношення антитіл анти-CD3 і/або анти-CD28 на гранулах або іншій поверхні, субпопуляції Т-клітин можуть бути переважно вибрані під час або впритул за часом до закладки культури або в інших бажаних моментах часу. Фахівцю в даній галузі техніки буде зрозуміло, що можна застосовувати декілька циклів відбору. У деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути бажаним виконати процедуру відбору і застосувати "невідібрані" клітини в процесі активації і розмноження. "Невідібрані" клітини також можуть бути піддані подальшим циклам відбору.

Збагачення популяції Т-клітин шляхом негативного відбору можна виконати за допомогою комбінації антитіл, спрямованих на поверхневі маркери, унікальні для негативно відібраних клітин. Один із способів є сортування та/або відбір клітин за допомогою негативно магнітної імуноадгезії або проточної цитометрії, в якій застосовується суміш з моноклональних антитіл, спрямованих на маркери клітинної поверхні, які присутні на клітинах, вибраних негативно. Наприклад, щоб збагатити CD4+ клітини шляхом негативного відбору, суміш моноклональних антитіл, як правило, включає в себе антитіла до CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR і CD8. У деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути бажаним збагачувати або позитивно відбирати регуляторні Т-клітини, які зазвичай експресують CD4+, CD25 +, CD62Lhi, GITR + і FoxP3+. Альтернативно, в деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-регуляторні клітини виснажують за допомогою анти-С25-кон'югованих гранул або інших подібних методів відбору.

Для виділення бажаної популяції клітин шляхом позитивного або негативного відбору концентрація клітин і поверхня (наприклад, частинки, такі як гранули) можуть бути змінені. У деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути бажаним значне зменшення об'єму, в якому гранули і клітини змішуються разом (тобто збільшення концентрації клітин), з метою забезпечення максимального контакту клітин і гранул. Наприклад, в одному варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію 2 мільярди клітин/мл. В одному варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію 1 мільярд клітин/мл. У подальшому варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію понад 100 мільйонів клітин/мл. У подальшому варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію клітин 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 або 50 мільйонів клітин/мл. У ще одному варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію клітин 75, 80, 85, 90, 95 або 100 мільйонів клітин/мл. У додаткових варіантах здійснення даного винаходу можна застосовувати концентрацію, що становить 125 або 150 мільйонів клітин/мл. Застосування високих концентрацій може призвести до збільшення кількості одержаних клітин, активації і розмноження клітин. Крім того, застосування високих концентрацій клітин дозволяє більш ефективно захоплювати клітини, які можуть слабо експресувати антигени-мішені, що представляють інтерес, такі як CD28-негативні Т-клітини, або клітини зі зразків, в яких є багато пухлинних клітин (тобто лейкозна кров, пухлинна тканина і т.д.). Такі популяції клітин можуть мати терапевтичну цінність і є бажаними для одержання. Наприклад, застосування високої концентрації клітин дозволяє більш ефективно відбирати CD8+ Т-клітини, які зазвичай характеризуються нижчим рівнем експресії CD28.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути бажаним застосування більш низьких концентрацій клітин. Шляхом суттєвого розведення суміші Т-клітин і поверхні (наприклад, частинок, таких як гранули), взаємодії між частинками і клітинами мінімізуються. Цей спосіб вибирають для клітин, які експресують велику кількість бажаних антигенів, пов'язаних з частинками. Наприклад, CD4+ Т-клітини експресують більш високі рівні CD28 і більш ефективно захоплюються, ніж CD8+ Т-клітини в розбавлених концентраціях. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовувана концентрація клітин становить 5×10^6 /мл. У деяких варіантах здійснення даного винаходу застосовувана концентрація клітин може становити від 1×10^5 /мл до 1×10^6 /мл, а також будь-яке ціле значення між ними.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу клітини можна інкубувати на ротаторі протягом різних проміжків часу зі змінними швидкостями при $2-10^\circ\text{C}$ або при кімнатній температурі.

Т-клітини для стимуляції також можна заморозити після етапу промивання. Не бажаючи бути обмеженими будь-якою теорією, вважають, що заморожування і наступний етап відтавання забезпечують більш однорідний продукт шляхом видалення гранулоцитів і в деякій мірі моноцитів в популяції клітин. Після етапу промивання, в результаті якого видаляється плазма і тромбоцити, клітини можна суспендувати в замороженому розчині. Незважаючи на те, що багато розчинів і параметрів заморожування відомі в даній галузі техніки і будуть придатні в цьому контексті, один із способів включає в себе застосування PBS, що містить 20 % ДМСО та 8 % сироваткового альбуміну людини, або культуральне середовище, що містить 10 % декстрану 40 і 5 % глюкози, 20 % сироваткового альбуміну людини і 7,5 % ДМСО, або 31,25 % плазмаліту-А (Plasmalyte-A), 31,25 % глюкози 5 %, 0,45 % NaCl, 10 % декстрану 40 і 5 % глюкози, 20 % сироваткового альбуміну людини і 7,5 % ДМСО або інших придатних середовищ для заморожування клітин, що містять, наприклад, Геспан (Hespan) і Плазмаліт А (PlasmaLyte A), після обробки якими клітини заморожують до -80°C з інтенсивністю 1° на хвилину і зберігають в паровій фазі резервуара для зберігання рідкого азоту. Можна застосовувати й інші методи контрольованого заморожування, а також неконтрольоване миттєве заморожування при -20°C або в рідкому азоті.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу кріоконсервовані клітини розморозжують і промивають, як описано в даному документі, і залишають на одну годину при кімнатній температурі перед активацією.

У даному винаході також розглядається збір зразків крові або продукту аферезу у суб'єкта в період часу до того, коли можуть знадобитися розмножені клітини, як описано в даному документі. Таким чином, клітини, що підлягають розмноженню, можна зібрати з їх джерела одержання в будь-який необхідний момент часу, при цьому бажані клітини, такі як Т-клітини будуть виділятися і заморожуватися для подальшого застосування з метою Т-клітинної терапії ряду захворювань або патологічних станів, при яких буде ефективна Т-клітинна терапія, така як описана в даному документі. В одному варіанті здійснення даного винаходу зразок крові або аферезу отримують від в цілому здорового суб'єкта. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зразок крові або аферезу одержують від в цілому здорового суб'єкта, який схильний до ризику розвитку захворювання, але у якого захворювання ще не розвинулося, при цьому клітини, що представляють інтерес, виділяють і заморожують для подальшого застосування. У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини можна розмножити, заморозити і застосовувати пізніше. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зразки збирають у пацієнта незабаром після встановлення діагнозу конкретного захворювання, як описано в даному документі, але до застосування будь-якого виду лікування. У подальшому варіанті здійснення даного винаходу клітини виділяють з зразка крові або аферезу у суб'єкта до застосування будь-якої кількості відповідних способів лікування, включаючи, але не обмежуючись ними, лікування такими агентами, як наталізумаб, ефалізумаб, протівірусні агенти, хіміотерапію, радіаційне опромінення, імуносупресивні агенти, такі як циклоспорин, азатіоприн, метотрексат, мікофенолат і FK506, антитіла або інші імуноаблативні агенти, такі як CAMPATH, антитіла анти-CD3, цитоксан, флударабін, циклоспорин, FK506, рапаміцин, мікофенольна кислота, стероїди, FR901228, а також променева обробка. Ці препарати інгібують кальциневрін кальційзалежну фосфатазу (циклоспорин і FK506) або інгібують кіназу p70S6, що важливо для передачі сигналів, індукованих фактором росту (рапаміцин) (Liu et al., Cell 66: 807-815, 1991; Henderson et al., Immun 73: 316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5: 763-773, 1993). У подальшому варіанті здійснення даного винаходу клітини виділяють від пацієнта і заморожують для подальшого застосування в поєднанні з (наприклад, до, одночасно або після) трансплантацією кісткового мозку або стовбурових клітин, Т-клітинною абляцією терапією із застосуванням або хіміотерапевтичних агентів, таких як флударабін, зовнішньої дистанційної

променевої терапії (XRT), циклофосфаміду, або антитіл, таких як OKT3 або CAMPATH. В іншому варіанті здійснення даного винаходу клітини можуть бути попередньо виділені і заморожені для подальшого застосування з метою лікування після В-клітинної абляційної терапії із застосуванням таких агентів, які реагують з CD20, наприклад, рітуксан.

5 У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини отримують від пацієнта безпосередньо після лікування. В цьому відношенні було виявлено, що після деяких видів лікування раку, зокрема, лікування препаратами, які вражають імунну систему, незабаром після лікування в ході періоду, коли пацієнт зазвичай відновлюється після лікування, якість одержаних Т-клітин може бути оптимальною або поліпшеною стосовно їх здатності
10 розмножуватися *ex vivo*. Аналогічним чином, після здійснення процесів *ex vivo* із застосуванням способів, описаних в даному документі, ці клітини можуть бути в кращому стані, що забезпечує поліпшене щеплення і розмноження *in vivo*. Таким чином, в контексті даного винаходу передбачається збирати клітини крові, включаючи Т-клітини, дендритні клітини або інші клітини гематопоетичної лінії, під час цієї фази відновлення. Крім того, в деяких варіантах здійснення даного винаходу мобілізацію (наприклад, мобілізацію з ГМКСФ) і схеми підготовки до лікування
15 можна застосовувати для створення стану у суб'єкта, при якому перевага віддається репопуляції, рециркуляції, регенерації та/або розмноженню конкретних типів клітин, особливо протягом певного періоду часу після терапії. Ілюстративні типи клітин включають Т-клітини, В-клітини, дендритні клітини та інші клітини імунної системи.

20 2. Активація і розмноження Т-клітин

Т-клітини можна активувати і розмножити незалежно від того, проводити це до чи після їх генетичної модифікації із застосуванням CAR, описаних в даному документі, здійснюючи зазначену активацію і розмноження, як правило, за допомогою способів, описаних, наприклад, в патенті США №№ 6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575;
25 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041; та в публікації патентної заявки США № 20060121005.

Як правило, Т-клітини можна розмножити шляхом контакту з поверхнею з прикріпленим до неї агентом, який стимулює сигнал, асоційований з комплексом CD3/TCR, і лігандом, який стимулює спів-стимулюючу молекулу на поверхні Т-клітин. Зокрема, популяції Т-клітин можуть
30 стимулюватися, як описано в даному документі, наприклад, шляхом приведення в контакт з антитілом анти-CD3 або його антигензв'язуючим фрагментом, або антитілом анти-CD2, іммобілізованим на поверхні, або шляхом приведення в контакт з активатором протеїнкінази С (наприклад, бріостатином) в поєднанні з іонофором кальцію. Для спів-стимуляції додаткової молекули на поверхні Т-клітин застосовується ліганд, який зв'язує додаткову молекулу.
35 Наприклад, популяцію Т-клітин можна приводити в контакт з антитілом анти-CD3 і антитілом анти-CD28 в умовах, придатних для стимуляції проліферації Т-клітин. Для стимуляції проліферації або CD4+ Т-клітин, або CD8+ Т-клітин, антитіла анти-CD3 і антитіла анти-CD28. Можна застосовувати антитіла анти-CD28, приклади яких включають в себе 9,3, В-Т3, XR-CD28 (Diaclone, Безансон, Франція), як і інші відомі в даній галузі техніки способи (Berg et al.,
40 Transplant Proc. 30 (8): 3975-3977, 1998; Naanen et al., J. Exp. Med. 190 (9): 13191328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227 (1-2): 53-63, 1999).

У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний стимулюючий сигнал і спів-стимулюючий сигнал для Т-клітини можна одержати за допомогою різних протоколів. Наприклад, агенти, що забезпечують кожен сигнал, можуть перебувати в розчині або бути
45 з'єднані з поверхнею. При з'єднанні з поверхнею агенти можуть бути з'єднані з однією і тією ж поверхнею (тобто у формі "цис") або з роздільними поверхнями (тобто у формі "транс"). В альтернативному варіанті один агент може бути пов'язаний з поверхнею і з іншим агентом в розчині. В одному варіанті здійснення даного винаходу агент, що забезпечує спів-стимулюючий сигнал, пов'язаний з поверхнею клітини, а агент, що забезпечує первинний активуючий сигнал,
50 знаходиться в розчині або з'єднаний з поверхнею. У деяких варіантах здійснення даного винаходу обидва агента можуть перебувати в розчині. В іншому варіанті здійснення даного винаходу агенти можуть знаходитися в розчинній формі, а потім поперечно зшиті з поверхнею, такою як клітина, експресують Fc-рецептори, або антитіло або інший зв'язуючий агент, який буде зв'язуватися з агентами. У зв'язку з цим, див., наприклад, публікації патентних заявок США №№ 20040101519 і 20060034810 для штучних антигенпредставляючих клітин (аАРС), які призначені для застосування з метою активації і розмноження Т-клітин в даному винаході.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу Т-клітини комбінують з гранулами, покритими агентом, потім гранули і клітини поділяють, після чого клітини культивують. В альтернативному варіанті здійснення даного винаходу, перед культивуванням, клітини і
60 гранули, покриті агентом, не поділяють, а культивують разом. У подальшому варіанті здійснення

даного винаходу гранули і клітини спочатку концентрують шляхом застосування сили, такої як магнітна сила, що призводить до посиленого лігування маркерів клітинної поверхні, тим самим індукуючі клітинну стимуляцію.

5 Як приклад білки клітинної поверхні можна лігувати, забезпечивши контакт парамагнітних гранул, до яких прикріплені анти-CD3 і анти-CD28 (3×28 гранул), з Т-клітинами. В одному варіанті здійснення даного винаходу клітини (наприклад, від 104 до 109 Т-клітин) і гранули (наприклад, парамагнітні гранули DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 Т в співвідношенні 1:1) комбінують в буфер, переважно PBS (без двовалентних катіонів, таких як кальцій і магній). Як і в попередньому випадку, фахівці в даній галузі техніки можуть легко оцінити, яку концентрацію клітин можна застосовувати. Наприклад, клітини-мішені можуть дуже рідко зустрічатися в зразку і складати тільки 0,01 % зразка, або весь зразок (тобто 100 %) може складатися з клітин-мішеней, що представляють інтерес. Відповідно, для даного винаходу можна застосовувати будь-яку кількість клітин. У деяких варіантах здійснення даного винаходу може бути бажаним значне зменшення об'єму, в якому частинки і клітини змішуються разом (тобто збільшення концентрації клітин), з метою забезпечення максимального контакту клітин і частинок. Наприклад, в одному варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію приблизно 2 мільярдів клітин/мл. В іншому варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію понад 100 мільйонів клітин/мл. У додатковому варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію клітин 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 або 50 мільйонів клітин/мл. У ще одному варіанті здійснення даного винаходу застосовують концентрацію клітин 75, 80, 85, 90, 95 або 100 мільйонів клітин/мл. У додаткових варіантах здійснення даного винаходу можна застосовувати концентрацію, що становить 125 або 150 мільйонів клітин/мл. Застосування високих концентрацій може призвести до збільшення кількості одержаних клітин, активації і розмноження клітин. Крім того, застосування високих концентрацій клітин дозволяє більш ефективно захоплювати клітини, які можуть слабо експресувати антигени-мішені, що представляють інтерес, такі як CD28-негативні Т-клітини. Такі популяції клітин можуть мати терапевтичну цінність і є бажаними для одержання в деяких варіантах здійснення даного винаходу. Наприклад, застосування високої концентрації клітин дозволяє більш ефективно відбирати CD8+ Т-клітини, які зазвичай характеризуються нижчим рівнем експресії CD28.

30 У деяких варіантах здійснення даного винаходу суміш можна культивувати протягом декількох годин (приблизно 3 годин) до приблизно 14 днів або будь-якого цілого значення години між ними. В іншому варіанті здійснення даного винаходу суміш можна культивувати протягом 21 дня. В одному варіанті здійснення даного винаходу гранули і Т-клітини культивують разом протягом приблизно восьми днів. В іншому варіанті здійснення даного винаходу гранули і Т-клітини культивують разом протягом 2-3 днів. Також можуть знадобитися кілька циклів стимуляції, в результаті чого час культивування Т-клітин може становити 60 днів або більше. Умови, придатні для культивування Т-клітин, включають в себе придатне середовище (наприклад, мінімальне основне середовище або середовище RPMI 1640 або X-vivo 15 (Lonza)), які можуть містити чинники, необхідні для проліферації і життєздатності, включаючи сироватку (наприклад, фетальну бичачу або людську сироватку), інтерлейкін-2 (IL-2), інсулін, IFN- γ , IL-4, IL-7, ГМКСФ, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β і TNF- α або будь-які інші добавки для росту клітин, відомих фахівцеві в даній галузі техніки. Інші добавки для росту клітин включають в себе, але не обмежуються ними, поверхнево-активну речовину, плазматат і відновники, такі як N-ацетилцистеїн і 2-меркаптоетанол. Середовище може включати в себе RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 15 і X-Vivo 20, Optimizer, з доданими амінокислотами, пируватом натрію і вітамінами, без сироватки або з додаванням відповідної кількості сироватки (або плазми) або певного набору гормонів і/або кількості цитокіну(ів), достатнього для росту і розмноження Т-клітин. Антибіотики, наприклад, пеніцилін і стрептоміцин, включені тільки в експериментальні культури, а не в культури клітин, які призначені для введення суб'єкту. Клітини-мішені витримують в умовах, необхідних для підтримки росту, наприклад, при відповідній температурі (наприклад, 37 °C) і у відповідній атмосфері (наприклад, повітря плюс 5 % CO₂). Т-клітини, які зазнали впливу стимуляції протягом різних періодів часу, можуть володіти різними характеристиками. Наприклад, типові продукти крові або мононуклеарних клітин периферичної крові, одержані в результаті аферезу, мають популяцію хелперних Т-клітин (TH, CD4+), яка є більш чисельною, ніж популяція цитотоксичних або супресорних Т-клітин (TC, CD8). Розмноження Т-клітин *ex vivo* в результаті стимуляції рецепторів CD3 і CD28 призводить до продукування популяції Т-клітин, які до приблизно 8-9 днів складаються переважно з TH-клітин, тоді як приблизно через 8-9 днів популяція Т-клітин включає в себе все більш численну популяцію TC-клітин. Відповідно, в залежності від мети лікування, може бути кращим введення суб'єкту популяції Т-клітин, що включає переважно TH-клітини. Аналогічним чином, якщо

виділена антигенспецифічна підмножина ТС-клітин, може бути корисно розмножити цю підмножину до більшого ступеня.

Крім того, на додаток до маркерів CD4 і CD8, інші фенотипічні маркери суттєво розрізняються, але в значній мірі є відтворюваними під час процесу розмноження клітин. Таким чином, така відтворюваність дає можливість адаптувати активований продукт Т-клітин для конкретних цілей.

V. Фармацевтичні композиції

Також в даному винаході пропонуються фармацевтичні композиції, що містять будь-яке з однодоменних антитіл (таких як анти-CD19, анти-CD20, анти-BCMA або анти-CD38 sdAb) або будь-яку зі сконструйованих імунних ефektorних клітин, що містять будь-який з CAR, як описано в даному документі, і фармацевтично прийнятний носій. Фармацевтичні композиції можна одержати шляхом змішування однодоменного антитіла або множини сконструйованих імунних ефektorних клітин, що володіють бажаним ступенем чистоти, в деяких випадках, в поєднанні з фармацевтично прийнятними носіями, допоміжними речовинами або стабілізаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), у вигляді ліофілізованих препаратів або водних розчинів.

Прийнятні носії, допоміжні речовини або стабілізатори є нетоксичними для реципієнтів в застосовуваних дозах і концентраціях і включають в себе буфери, антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту, метіонін, вітамін Е, метабісульфіт натрію; консерванти, ізотонічні речовини, стабілізатори, комплекси металів (наприклад, Zn-білкові комплекси); хелатуючі агенти, такі як ЕДТА і/або неіонні поверхнево-активні речовини.

Буфери застосовують для контролю рН в діапазоні, який оптимізує терапевтичну ефективність, особливо якщо стабільність залежить від рН. Буфери переважно присутні в концентраціях від приблизно 50 мМ до приблизно 250 мМ. Придатні буферні агенти для застосування за даним винаходом включають в себе як органічні, так і неорганічні кислоти і їх солі. Наприклад, цитрат, фосфат, сукцинат, тартрат, фумарат, глюконат, оксалат, лактат, ацетат. Крім того, буфери можуть містити солі гістидину і триметиламіну, такі як Тріс.

Консерванти додаються для уповільнення росту мікроорганізмів і зазвичай присутні в діапазоні від 0,2 % до 1,0 % (мас./об.). Придатні консерванти для застосування за даним винаходом включають в себе хлорид октадецилдиметилбензиламонію; хлорид гексаметонію; галогеніди бензалконію (наприклад, хлорид, бромід, йодид), хлорид бензетонію; тімеросал, фенол, бутіл або бензиловий спирт; алкілпарабени, такі як метил або пропілпарабен; катехін; резорцин; циклогексанол, 3-пентанол і м-крезол.

Регулятори тонічності, що іноді називаються "стабілізаторами", присутні для регулювання або підтримки тонічності рідини в композиції. При застосуванні з великими зарядженими біомолекулами, такими як білки і антитіла, регулятори тонічності часто називають "стабілізаторами", оскільки вони можуть взаємодіяти з зарядженими групами бічних ланцюгів амінокислот, тим самим зменшуючи потенціал міжмолекулярних та внутрішньомолекулярних взаємодій. Регулятори тонічності можуть бути присутніми в будь-якій кількості від 0,1 до 25 мас. %, переважно від 1 до 5 мас. %, з урахуванням відносних кількостей інших інгредієнтів. Переважні регулятори тонічності включають в себе багатоатомні цукрові спирти, переважно тригідратні або вищі цукрові спирти, такі як гліцерин, еритрит, арабітол, ксиліт, сорбіт і маніт.

Додаткові допоміжні речовини включають в себе агенти, які можуть функціонувати як одна або декілька з наступних речовин: (1) об'ємоутворюючі агенти, (2) підсилювачі розчинності, (3) стабілізатори (4) і агенти, що запобігають денатурації або прилипанню до стінки контейнера. Такі допоміжні речовини включають в себе: багатоатомні цукрові спирти (перераховані вище); амінокислоти, такі як аланін, гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін, лізин, орнітин, лейцин, 2-фенілаланін, глутамінова кислота, треонін і т.д.; органічні цукри або цукрові спирти, такі як сахароза, лактоза, лактит, трегалоза, стахіоза, маноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибітол, міонісітоза, міонізітол, галактоза, галактит, гліцерин, циклітоли (наприклад, інозит), поліетиленгліколь; сірковмісні відновники, такі як сечовина, глутатіон, тіоктова кислота, тіогліколят натрію, тіогліцерин, α -монотіогліцерин і тіосульфат натрію; білки з низькою молекулярною масою, такі як людський сироватковий альбумін, бичачий сироватковий альбумін, желатин або інші імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; моносахариди (наприклад, ксилоза, маноза, фруктоза, глюкоза, дисахариди (наприклад, лактоза, мальтоза, сахароза), трисахариди, такі як рафінози і полісахариди, такі як декстрин або декстран.

Неіонні поверхнево-активні речовини або детергенти (також відомі як "змочуючі агенти") містяться для полегшення солюбілізації терапевтичного агента, а також захисту терапевтичного білка від агрегації, викликаної перемішуванням, що також дозволяє складу піддаватися напрузі

поверхні зсуву без ініціювання денатурації активного терапевтичного білка або антитіла. Неіонні поверхнево-активні речовини містяться в діапазоні від приблизно 0,05 мг/мл до приблизно 1,0 мг/мл, переважно від приблизно 0,07 мг/мл до приблизно 0,2 мг/мл.

Придатні неіонні поверхнево-активні речовини включають в себе полісорбати (20, 40, 60, 65, 80 і т.д.), поліоксимери (184, 188 і т.д.), полііоли PLURONIC®, TRITON®, поліоксиетиленові сорбітанові моноєфіри (TWEEN®-20, TWEEN®-80 і т.д.), лауромакрогол 400, поліоксил 40 стеарат, поліоксиетилен гідрогенізована касторова олія 10, 50 і 60, моностеарат гліцерину, складний ефір сахарози і жирної кислоти, метилцелюлозу і карбоксиметилцелюлозу. Аніонні детергенти, які можна застосовувати, включають в себе лаурилсульфат натрію, диоктилсульфосукцинат натрію і диоктилсульфонат натрію. Катіонні детергенти включають в себе хлорид бензалконію або хлорид бензетонію.

Фармацевтичні композиції для введення *in vivo* повинні бути стерильними. Стерилізацію фармацевтичної композиції можна здійснити шляхом фільтрації через стерильні фільтруючі мембрани. Як правило, фармацевтичні композиції за даним винаходом, поміщають в контейнер зі стерильним входним отвором, наприклад, пакет або флакон для внутрішньовенного розчину з пробкою, проколюють голкою для підшкірної ін'єкції.

Шлях введення відповідає відомим і прийнятим способам, наприклад, одноразове або множинне введення болюсної дози або інфузія протягом тривалого періоду часу відповідним шляхом, наприклад, ін'єкція або інфузія за допомогою підшкірного, внутрішньовенного, внутрішньочеревного, внутрішньом'язового, внутрішньо-артеріального, внутрішньоосередкового або внутрішньосуглобового шляху, місцеве введення, інгаляція або введення з уповільненим вивільненням або пролонгованим вивільненням.

Можна виготовити препарати з уповільненим вивільненням. Відповідні приклади препаратів уповільненого вивільнення включають в себе напівпроникні матриці твердих гідрофобних полімерів, що містять антагоніст і присутні у вигляді формованих виробів, наприклад, плівок або мікрокапсул. Приклади матриць з уповільненим вивільненням включають в себе полієфіри, гідрогелі (наприклад, полі(2-гідроксиетилметакрилату) або полі(вініловий спирт)), полілактид (патенті США № 3773919), співполімери L-глутамінової кислоти і γ -етил-L-глутамату, нерозкладаний етилвінілацетат, розкладані співполімери молочної кислоти-гліколевої кислоти, такі як LUPRON DEPOT™ (ін'єкційні мікросфери, що складаються зі співполімеру молочної кислоти-гліколевої кислоти і лейпроліду ацетату), і полі-D-(-)-3-гідроксимасляну кислоту.

Фармацевтичні композиції, описані в даному документі, також можуть містити більше однієї активної сполуки або агента, необхідного для конкретного показання, що підлягає лікуванню, переважно з додатковими видами активності, які не чинять негативного впливу один на одного. В альтернативному або додатковому варіанті композиція може містити цитотоксичний агент, хімотерапевтичний агент, цитокін, імунодепресанти або агент, що інгібує ріст. Такі молекули можуть бути присутніми в комбінації в кількостях, які ефективні при застосуванні з передбачуваною метою.

Активні інгредієнти можна включити в мікрокапсули, одержані, наприклад, за допомогою методик коацервації або міжфазної полімеризації, наприклад, гідроксиметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули і полі-(метилметакрилатні) мікрокапсули, відповідно, в колоїдні системи доставки лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії. Такі методики описані в Remington's Pharmaceutical Sciences 18th edition.

45 VI. Способи лікування раку

Цей винахід відноситься до способів і композицій для застосування в клітинній імунотерапії. У деяких варіантах здійснення даного винаходу клітинна імунотерапія призначена для лікування раку, включаючи, але не обмежуючись цим, гематологічні злоякісні пухлини і солідні пухлини. Будь-які однодоменні антитіла, химерні рецептори антигенів і сконструйовані імунні ефекторні клітини, описані в даному документі, можна застосовувати в способі лікування раку. Описані в даному документі CAR можуть бути придатні для лікування пухлин, що характеризуються мутаціями, які зумовлюють продукування зниклих варіантів антигену, а також для зниження резистентності до існуючих способів лікування. У деяких варіантах здійснення даного винаходу способи і композиції, описані в даному документі, можна застосовувати для лікування інших захворювань, які асоційовані з антигенами, що специфічно розпізнаються однодоменними антитілами або CAR, включаючи, наприклад, аутоімунні захворювання.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як T-клітина), що містить мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний

рецептор антигенів (CAR), який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з першим антигеном (таким як перший пухлинний антиген), і друге однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з другим антигеном (таким як другий пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший антиген відрізняється від другого антигену; і (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перший антиген і/або другий антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітину), яка містить BCMA \times CD38 CAR, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-BCMA і однодоменне антитіло анти-CD38; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb і/або анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA і однодоменне антитіло анти-CD38 є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є злитим з анти-CD38 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є злитим з анти-CD38 sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного

винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен

5 вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу

10 внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить шарнірний домен

15 (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид

20 CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-BCMA містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, і

25 CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29. У деяких варіантах реалізації винаходи антитіло анти-CD38 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA \times CD38 CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з

30 SEQ ID NO: 207-216. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом. У деяких варіантах здійснення даного винаходу гемобластоз є множинною мієломою.

35 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) а CD19 \times CD20 CAR, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить однодоменне антитіло анти-CD19 і однодоменне антитіло анти-CD20; (b) трансмембранний домен; і (c)

40 внутрішньоклітинний сигнальний домен; і (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb і/або анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD20 і однодоменне антитіло анти-CD20 є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного

45 винаходу анти-CD19 є злитим з анти-CD20 sdAb на N-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є злитим з анти-CD20 sdAb на С-кінці. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з

50 групи, що складається з SEQ ID NO: 144-151. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу

55 первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR

60

додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу однодоменне антитіло анти-CD19 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антитіло анти-CD20 містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 \times CD20 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 206. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом. У деяких варіантах здійснення даного винаходу гемобластозу є В-клітинною лімфоною.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітина), що містить полівалентний химерний рецептор антигенів, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить множину однодоменних антитіл (sdAb), які специфічно зв'язуються з антигеном (таким як пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина sdAb є верблужими, химерними, людськими або гуманізованими. У деяких варіантах здійснення даного винаходу множина однодоменних антитіл є злитими одне з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 198-201 і 265-270. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення

даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітина), що містить полівалентний химерний рецептор антигенів, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з першим епітопом антигену (таким як пухлинний антиген), і друге однодоменне антитіло, яке специфічно зв'язується з другим епітопом антигену; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу перше однодоменне антитіло і друге однодоменне антитіло є злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 (наприклад, не більше ніж приблизно 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах здійснення даного винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу полівалентний CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, отриманий з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластомом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітина), що містить CD19 химерний рецептор антигенів, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD19 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD19 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; і (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR

додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD19 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 248. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітина), що містить CD20 CAR, що містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD20 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-CD20 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; і (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb додатково містить FR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 244, FR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 245, FR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 246, та/або FR4, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 247. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD20 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD20 CAR містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 249. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітина), що містить CD20 CAR, який містить поліпептид, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний

домен; і (с) внутрішньоклітинний сигнальний домен, і (2) фармацевтично прийнятний носій, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів:

(23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

(24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

(25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

(26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

(28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34;

(29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

(30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

(31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

(32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

(33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3ζ. У деяких варіантах здійснення

даного винаходу ВСМА CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-162. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (таку як Т-клітина), що містить CD38 CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD38 sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, і (2) фармацевтично прийнятний носій, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів:

(25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;

(26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65;

(27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66;

(28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

(29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

(30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

(31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70;

(32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

(33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

(34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

(36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (такої як Т-клітина). У деяких варіантах здійснення даного винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах здійснення даного винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах здійснення даного винаходу спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається

з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить шарнірний домен (такий як шарнірний домен CD8 α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR додатково містить сигнальний пептид (такий як сигнальний пептид CD8 α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, перший спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD28, другий спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначений поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8 α , позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , спів-стимулюючий сигнальний домен, одержаний з CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, одержаний з CD3 ζ . У деяких варіантах здійснення даного винаходу CD38 CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 163-174. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є гемобластозом, таким як множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу рак є солідним раком.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування захворювання (такого як рак) у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, яка містить однодоменне антитіло анти-CD19 і фармацевтично прийнятний носій, причому однодоменне антитіло анти-CD19 містить три CDR: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD19 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування захворювання (такого як рак) у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, яка містить однодоменне антитіло анти-CD19 і фармацевтично прийнятний носій, причому однодоменне антитіло анти-CD20 містить три CDR: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6. У деяких варіантах здійснення анти-CD20 sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування захворювання (такого як рак) у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, яка містить однодоменне антитіло анти-BCMA і фармацевтично прийнятний носій, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який елемент з наступних:

(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

5 (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

10 (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

15 (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88.

20 У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування захворювання (такого як рак) у індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, яка містить однодоменне антитіло анти-CD38 і фармацевтично прийнятний носій, при цьому анти-CD38 sdAb містить будь-який елемент з наступних: CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що

25 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;
(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66;

(3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

35 (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

40 (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70;

45 (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

(8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

50 (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

55 (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

60 У деяких варіантах здійснення даного винаходу анти-CD38 sdAb містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100.

Способи, описані в даному документі, придатні для лікування різних видів раку, включаючи як солідний рак, так і гемобластози. Способи застосовні до раків всіх стадій, включаючи ранню стадію, пізню стадію і метастатичний рак. Способи, описані в даному документі, можна застосовувати як першу лінію терапії, другу лінію терапії, третю лінію терапії або комбіновану терапію з іншими способами лікування раку, відомими в даній галузі техніки, такими як хіміотерапія, хірургічне лікування, опромінення, генна терапія, імунотерапія, трансплантація кісткового мозку, трансплантація стовбурових клітин, таргетна терапія, кріотерапія, ультразвукова терапія, фотодинамічна терапія, радіочастотна абляція або подібне, в режимі ад'ювантного або неoad'ювантного лікування.

Введення фармацевтичних композицій можна здійснювати будь-яким зручним способом, в тому числі за допомогою ін'єкцій, вживання, трансфузії, імплантації або трансплантації. Композиції можна вводити пацієнту трансартеріально, підшкірно, внутрішньошкірно, внутрішньопухлинно, інтранодально, інтрамедулярно, внутрішньом'язово, внутрішньовенно або внутрішньочеревно. У деяких варіантах здійснення даного винаходу фармацевтичну композицію вводять системно. У деяких варіантах здійснення даного винаходу фармацевтичну композицію вводять індивідууму шляхом інфузії, такої як внутрішньовенна інфузія. Інфузійні методики для імунотерапії добре відомі в даній галузі техніки (див., наприклад, Rosenberg et al., *New Eng. J. of Med.* 319: 1676 (1988)). У деяких варіантах здійснення даного винаходу фармацевтичну композицію вводять індивідууму шляхом внутрішньошкірної або підшкірної ін'єкції. У деяких варіантах здійснення даного винаходу композиції вводять шляхом внутрішньовенної ін'єкції. У деяких варіантах здійснення даного винаходу композиції вводять безпосередньо в пухлину або лімфатичний вузол. У деяких варіантах здійснення даного винаходу фармацевтичну композицію вводять місцево в область пухлини, наприклад, безпосередньо в пухлинні клітини, або тканини, які мають пухлинні клітини.

Множинна мієлома (ММ) є невиліковною агресивною злоякісною пухлиною плазми, яка класифікується як неоплазія В-клітин і яка неконтрольовано проліферує в кістковому мозку, перешкоджаючи нормальному метаболічному продукуванню клітин крові і зумовлюючи хворобливі ураження кісток (Garfall, AL et al., *Discovery Med.* 2014 року, 17, 37). Клінічно множинна мієлома може проявлятися гіперкальціємією, нирковою недостатністю, анемією, кістковими ураженнями, бактеріальними інфекціями, підвищеною в'язкістю крові і амілоїдозом (Robert Z. Orlowski, *Cancer Cell.* 2013, 24 (3)). Згідно з дослідженнями та статистикою, щорічно мієлома діагностується у приблизно 86 000 пацієнтів, при цьому приблизно 63 000 пацієнтів щорічно вмирають від ускладнень, асоційованих з цією патологією (Becker, 2011). Крім того, через старіння населення прогнозується, що число випадків мієломи буде зростати з року в рік. Як і для багатьох видів раку, щодо множинної мієломи залишається невідомою причина захворювання і не розроблено ефективне лікування. Деякі способи лікування множинної мієломи є аналогічними лікуванням інших видів раку, наприклад, хіміотерапія або променева терапія, трансплантація стовбурових клітин або трансплантація кісткового мозку, таргетна терапія або біологічна терапія (George, 2014 року). Клітинна імунотерапія на основі антитіл продемонстрували суттєву клінічну ефективність у пацієнтів з гематологічними злоякісними новоутвореннями, особливо при В-клітинній неходжкінській лімфомі. Існує потреба в ефективному імунотерапевтичному агенті для лікування множинної мієломи.

Дози і необхідна концентрація лікарського засобу в фармацевтичних композиціях за даним винаходом можуть варіюватися в залежності від конкретного застосування. Способи визначення відповідної дози або шляху введення добре відомі кваліфікованому фахівцеві. Експерименти на тваринах забезпечують надійні рекомендації для визначення ефективних доз для лікування людини. Міжвидове приведення ефективних доз можна виконати згідно з принципами, викладеними в Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In *Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1289, pp. 42-46. В рамках даного винаходу для різних способів лікування і при різних порушеннях будуть ефективними різні склади, при цьому введення, що застосовується при лікуванні конкретного органу або тканини, може потребувати доставки за допомогою способу, відмінного від іншого способу, за допомогою якого необхідно доставити склад до іншого органу або тканини.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких фармацевтична композиція містить будь-яке однодомне антитіло, описане в даному документі, зазначену фармацевтичну композицію вводять в дозі від приблизно 10 нг/кг до приблизно 100 мг/кг ваги тіла індивідуума або більше на добу, наприклад, від приблизно 1 мг/кг/доб до 10 мг/кг/доб, в залежності від шляху введення. Рекомендації з конкретних доз і способів доставки представлені в літературі; див., наприклад, в патенті США № 4657760; 5206344; або 5225212.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких фармацевтична композиція містить будь-яку зі сконструйованих імунних клітин, описаних в даному документі, зазначену фармацевтичну композицію вводять в дозі щонайменше приблизно 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 або 10^9 клітин/кг ваги тіла індивідуума. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначену

фармацевтичну композицію вводять в дозі щонайменше від приблизно 10^4 до приблизно 10^5 , від приблизно 10^5 до приблизно 10^6 , від приблизно 10^6 до приблизно 10^7 , від приблизно 10^7 до 10^8 , від приблизно 10^8 до приблизно 10^9 , від приблизно 10^4 до приблизно 10^9 , від приблизно 10^4 до приблизно 10^6 , від приблизно 10^6 до приблизно 10^8 , або від приблизно 10^5 до приблизно 10^7 клітин/кг ваги тіла індивідуума.

У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначену фармацевтичну композицію вводять один раз. У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначену фармацевтичну композицію вводять безліч разів (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6 або більшу кількість разів). У деяких варіантах здійснення даного винаходу зазначену фармацевтичну композицію вводять один раз в тиждень, один раз в 2 тижні, один раз в 3 тижні, один раз в 4 тижні, один раз в місяць, один раз в 2 місяці, один раз в 3 місяці, один раз в 4 місяці, один раз в 5 місяців, один раз в 6 місяців, один раз в 7 місяців, один раз в 8 місяців, один раз в 9 місяців або один раз на рік. У деяких варіантах здійснення даного винаходу інтервал між введеннями становить від приблизно одного тижня до 2 тижнів, від 2 тижнів до 1 місяця, від 2 тижнів до 2 місяців, від 1 місяця до 2 місяців, від 1 місяця до 3 місяців, від 3 місяців до 6 місяців або від 6 місяців до року. Спеціаліст в галузі медицини може легко визначити оптимальну дозу і схему лікування для конкретного пацієнта шляхом моніторингу за симптомами захворювання і відповідної корекції лікування у даного пацієнта.

Крім того, дози можна вводити за допомогою одного або більшої кількості окремих введень або шляхом безперервної інфузії. При повторному введенні протягом декількох днів або довше, в залежності від стану, лікування продовжують до бажаного придушення симптомів захворювання. Однак можна використовувати й інші схеми введення доз. Ефективність лікування можна контролювати за допомогою звичайних методик і аналізів.

VII. Набори і готові вироби

У даному винаході додатково пропонуються набори, поодинокі дози і готові вироби, що містять будь-які однодомні антитіла, химерні рецептори антигенів або сконструйовані імунні ефекторні клітини, описані в даному документі. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується набір, який містить будь-яку з описаних в даному документі фармацевтичних композицій, і переважно пропонуються інструкції для його застосування.

Набори з даного винаходу знаходяться в придатній упаковці. Придатна упаковка включає в себе, але не обмежується цим, флакони, пляшки, банки, гнучку упаковку (наприклад, герметичні майларові або пластикові пакети) тощо. У деяких випадках набори можуть містити додаткові компоненти, такі як буфери і пояснювальну інформацію. Таким чином, в даному винаході також пропонуються готові вироби, які включають в себе флакони (наприклад, герметичні флакони), пляшки, банки, гнучку упаковку тощо.

Готовий виріб може містити контейнер і етикетку, що пов'язана з контейнером або знаходиться на ньому, або листок-вкладиш в упаковку. Придатні контейнери включають, наприклад, бутлі, флакони, шприци і т.п. Контейнери можуть бути виготовлені з різних матеріалів, таких як скло або пластик. Як правило, контейнер містить композицію, яка ефективно застосовується при лікуванні захворювання або порушення (такого як рак), описаного в даному документі, і може мати стерильний вхідний отвір (наприклад, контейнер може являти собою пакет з розчином для внутрішньовенного введення або флакон з пробкою, що проколюють голкою для підшкірної ін'єкції). На етикетці або на листку-вкладиші в упаковку зазначено, що композицію застосовують для лікування конкретного патологічного стану у індивідуума. Етикетка або листок-вкладиш в упаковку повинні додатково містити інструкції щодо введення композиції індивідууму. На етикетці можуть міститися вказівки щодо введенню і/або застосування. Контейнер, що містить фармацевтичну композицію, може бути багаторазовим флаконом, який допускає повторні введення (наприклад, від 2-6 введень) відновленої композиції. У листку-вкладиші в упаковку наводяться інструкції, що в звичайному порядку включаються в комерційні упаковки терапевтичних засобів, які містять інформацію про показання, застосування, дози, введення, протипоказання і/або застереження, що стосуються застосування таких терапевтичних засобів. На додаток до цього, готовий виріб може додатково містити другий контейнер, що містить фармацевтично прийнятний буферний розчин, такий як бактеріостатична вода для ін'єкцій (BWFI), фосфатно-сольовий буферний розчин, розчин Рінгера та розчин глюкози. Готовий виріб може включати в себе інші матеріали, що є бажаними з комерційної та споживацької точки зору, в тому числі інші буфери, розріджувачі, фільтри,

голки і шприци.

Набори чи готовий виріб можуть включати в себе множину одиничних доз фармацевтичної композиції та інструкції із застосування, які упаковані в кількостях, достатніх для зберігання і застосування в аптеках, наприклад, в аптеках при клініках і аптеках, що мають рецептурно-виробничий відділ.

Приклади і типові варіанти здійснення даного винаходу, наведені нижче, призначені тільки для ілюстративних цілей і тому не повинні розглядатися як такі, що обмежують винахід будь-яким чином. Таким чином, наступні приклади і докладний опис пропонуються як ілюстрація, а не для обмеження.

ТИПОВІ ВАРІАНТИ ЗДІЙСНЕННЯ ЦЬОГО ВИНАХОДИ

Варіант здійснення 1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з першим антигеном, і друге однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з другим антигеном; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

Варіант здійснення 2. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 1, перший антиген відрізняється від другого антигену.

Варіант здійснення 3. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 2, CAR є мультиспецифічним.

Варіант здійснення 4. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 3, CAR є біспецифічним.

Варіант здійснення 5. В деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-4, перше sdAb розташоване на N-кінці другого sdAb.

Варіант здійснення 6. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-4, перше sdAb розташоване на C-кінці другого sdAb.

Варіант здійснення 7. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-6, перший антиген і другий антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77.

Варіант здійснення 8. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 7, перше sdAb є анти-BCMA sdAb.

Варіант здійснення 9. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 7, перше sdAb є анти-CD38 sdAb.

Варіант здійснення 10. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 7, перше sdAb є анти-CD19 sdAb.

Варіант здійснення 11. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 7, перше sdAb є анти-CD20 sdAb.

Варіант здійснення 12. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 7, перше sdAb є анти-CD22 sdAb.

Варіант здійснення 13. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 8, CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить щонайменше дві копії анти-BCMA sdAb.

Варіант здійснення 14. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 9, CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить щонайменше дві копії анти-CD38 sdAb.

Варіант здійснення 15. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 8 або за варіантом здійснення 9, перше sdAb є анти-BCMA sdAb, а друге sdAb є анти-CD38 sdAb.

Варіант здійснення 16. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 8 або за варіантом здійснення 10, перше sdAb є анти-BCMA sdAb, а друге sdAb є анти-CD19 sdAb.

Варіант здійснення 17. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 10 або за варіантом здійснення 11, перше sdAb є анти-CD19 sdAb, а друге sdAb є анти-CD20 sdAb.

Варіант здійснення 18. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 10 або за варіантом здійснення 12, перше sdAb є анти-CD19 sdAb, а друге sdAb є анти-CD22 sdAb.

Варіант здійснення 19. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-14, перший антиген є таким же, як і другий антиген.

Варіант здійснення 20. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 19, CAR є двовалентним або тривалентним.

5 Варіант здійснення 21. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 19 або за варіантом здійснення 20, перше sdAb і друге sdAb специфічно зв'язуються з одним і тим же епітопом.

Варіант здійснення 22. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 21, перше sdAb є таким же, як друге sdAb.

10 Варіант здійснення 23. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 19 або за варіантом здійснення 20, перше sdAb і друге sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами.

Варіант здійснення 24. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 8, 13, 15, 16 і 19-23, анти-BCMA sdAb містить одну з наведених нижче областей:

15 (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

20 (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

30 (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

35 (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

40 (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

45 (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

Варіант здійснення 25. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 24, анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88.

50 Варіант здійснення 26. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 9, 14, 15 і 19-23, анти-CD38 sdAb містить одну з наведених нижче областей:

(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65;

60 (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

5 (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

10 (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70;

15 (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

20 (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

25 (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

30 Варіант здійснення 27. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 26, анти-CD38 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100.

35 Варіант здійснення 28. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 10 і 16-23, анти-CD19 sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3.

Варіант здійснення 29. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 28, анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

40 Варіант здійснення 30. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 11, 17 і 19-23, анти-CD20 sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6.

45 Варіант здійснення 31. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 30, анти-CD20 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

Варіант здійснення 32. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-31, перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерними, людськими або гуманізованими.

50 Варіант здійснення 33. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-32, перше sdAb і друге sdAb є безпосередньо злитими один з одним за допомогою пептидного зв'язку.

Варіант здійснення 34. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-32, перше sdAb і друге sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного лінкера.

55 Варіант здійснення 35. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 34, пептидний лінкер має довжину не більше ніж приблизно 50 амінокислот.

60 Варіант здійснення 36. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 35, пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 144-151.

Варіант здійснення 37. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло анти-CD19 (sdAb), що містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3.

5 Варіант здійснення 38. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 37, анти-CD19 sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76.

Варіант здійснення 39. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD19 sdAb за спрощеним варіантом здійснення 37 або за варіантом здійснення 38; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

10 Варіант здійснення 40. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло (sdAb) анти-CD20, який містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6.

15 Варіант здійснення 41. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 40, анти-CD20 sdAb містить домен V_HH, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

20 Варіант здійснення 42. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD20 sdAb за спрощеним варіантом здійснення 40 або за варіантом здійснення 41; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

Варіант здійснення 43. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується однодоменне антитіло (sdAb) анти-BCMA, що містить будь-яку з наступних областей:

25 (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30;

30 (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31;

35 (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33;

40 (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35;

45 (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; або

55 (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39.

60 Варіант здійснення 44. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 43, анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 78-88.

Варіант здійснення 45. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-BCMA sdAb за спрощеним варіантом здійснення 43 або за варіантом здійснення 44; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

5 Варіант здійснення 46. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується одномоментне антитіло (sdAb) анти-CD38, що містить CDR, яка містить одну з наведених нижче областей:

(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64;

10 (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65;

15 (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67;

20 (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69;

25 (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72;

35 (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або

40 (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.

45 Варіант здійснення 47. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 46, анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 89-100.

Варіант здійснення 48. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів, що містить: (а) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить анти-CD38 sdAb за спрощеним варіантом здійснення 46 або за варіантом здійснення 47; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

Варіант здійснення 49. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48, трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1.

55 Варіант здійснення 50. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 49, трансмембранний домен є похідним від CD8 або CD28.

Варіант здійснення 51. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 50, трансмембранний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132 або SEQ ID NO: 133.

60 Варіант здійснення 52. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-

яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48-51, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини.

5 Варіант здійснення 53. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 52, первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ζ .

Варіант здійснення 54. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 53, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 140 або SEQ ID NO: 141.

10 Варіант здійснення 55. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48-54, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить спів-стимулюючий сигнальний домен.

15 Варіант здійснення 56. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 55, спів-стимулюючий сигнальний домен є похідним від спів-стимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій.

Варіант здійснення 57. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 56, спів-стимулюючий сигнальний домен містить цитоплазматичний домен CD28 і/або цитоплазматичний домен CD137.

20 Варіант здійснення 58. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 57, спів-стимулюючий сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 136 і/або SEQ ID NO: 137.

25 Варіант здійснення 59. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48-58, CAR додатково містить шарнірний домен, розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену.

Варіант здійснення 60. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 59, шарнірний домен є похідним від CD8 α .

30 Варіант здійснення 61. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 60, шарнірний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 130.

Варіант здійснення 62. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48-61, CAR додатково містить сигнальний пептид, розташований на N-кінці поліпептиду.

35 Варіант здійснення 63. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 62, сигнальний пептид є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8, ГМКСФ-рецептора α і важкого ланцюга IgG1.

Варіант здійснення 64. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 63, сигнальний пептид є похідним від CD8 α .

40 Варіант здійснення 65. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 64, сигнальний пептид містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 127.

Варіант здійснення 66. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується химерний рецептор антигенів, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 і 265-270.

45 Варіант здійснення 67. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 76-100, 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 і 265-270.

50 Варіант здійснення 68. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує CAR за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48-66.

Варіант здійснення 69. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 68, послідовність нуклеїнової кислоти вибирають з групи, що складається з SEQ ID NO: 175-197, 202-205, 217-227, 250-251, 261-264 і 271-276.

55 Варіант здійснення 7. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 68 або за варіантом здійснення 69, виділена нуклеїнова кислота додатково містить послідовність другої нуклеїнової кислоти, яка кодує другий CAR, при цьому послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує CAR, функціонально пов'язана з послідовністю другої нуклеїнової кислоти за допомогою послідовності третьої нуклеїнової кислоти, яка кодує саморозщеплюваний пептид.

60 Варіант здійснення 71. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за

спрощеним варіантом здійснення 70, саморозщеплюваний пептид вибирають з групи, що складається з T2A, P2A і F2A.

Варіант здійснення 72. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 71, послідовність третьої нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 255.

5 Варіант здійснення 73. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 68-72, виділена нуклеїнова кислота є молекулою РНК.

Варіант здійснення 74. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується вектор, що містить виділену нуклеїнову кислоту за будь-яким одним з варіантів здійснення 68-72.

10 Варіант здійснення 75. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 74, вектор є експресійним вектором.

Варіант здійснення 76. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 74 або за варіантом здійснення 75, вектор є вірусним вектором.

15 Варіант здійснення 77. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 76, вектор є лентівірусним вектором.

Варіант здійснення 78. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина, яка містить CAR за будь-яким одним з варіантів здійснення 1-36, 39, 42, 45 і 48-66, і виділену нуклеїнову кислоту за будь-яким одним з варіантів здійснення 68-73, або вектор за будь-яким одним з варіантів здійснення 74-77.

20 Варіант здійснення 79. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 78, імунна ефекторна клітина є Т-клітиною, НК-клітиною, мононуклеарною клітиною периферичної крові (МКПК), гемопоетичною стовбуровою клітиною, плюрипотентною стовбуровою клітиною або ембріональною стовбуровою клітиною.

25 Варіант здійснення 80. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 79, імунна ефекторна клітина є Т-клітиною.

Варіант здійснення 81. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить сконструйовану імунну ефекторну клітину за будь-яким одним з варіантів здійснення 78-80, і фармацевтично прийнятний носій.

30 Варіант здійснення 82. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування раку у індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції за прискореним варіантом здійснення 81.

Варіант здійснення 83. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 82, сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною.

35 Варіант здійснення 84. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 82, сконструйована імунна ефекторна клітина є аллогенною.

Варіант здійснення 85. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 82-84, рак є гемобластомом.

40 Варіант здійснення 86. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 85, рак є множинною мієломою, гострим лімфобластним лейкозом або хронічним лімфоцитарним лейкозом.

Варіант здійснення 87. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за будь-яким одним з варіантів здійснення 82-84, рак є солідним раком.

45 Варіант здійснення 88. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить анти-CD19 sdAb за спрощеним варіантом здійснення 37 або за варіантом здійснення 38, і фармацевтично прийнятний носій.

Варіант здійснення 89. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить анти-CD20 sdAb за спрощеним варіантом здійснення 40 або за варіантом здійснення 41, і фармацевтично прийнятний носій.

50 Варіант здійснення 90. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить анти-BCMA sdAb за спрощеним варіантом здійснення 43 або за варіантом здійснення 44, і фармацевтично прийнятний носій.

Варіант здійснення 91. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить анти-CD38 sdAb за спрощеним варіантом здійснення 46 або за варіантом здійснення 47, і фармацевтично прийнятний носій.

55 Варіант здійснення 92. В деяких варіантах здійснення даного винаходу пропонується спосіб лікування захворювання у індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції за будь-яким одним з варіантів здійснення 88-91.

Варіант здійснення 93. У деяких додаткових варіантах здійснення даного винаходу за спрощеним варіантом здійснення 92, захворювання є раком.

60 ПРИКЛАДИ

Наведені в даному документі приклади не призначені для подання того, що експерименти, наведені нижче, це все експерименти, які проводилися. Вжито заходів для забезпечення точності стосовно застосовуваних чисел (наприклад, кількостей, температури і т.д.), але слід враховувати наявність деяких експериментальних похибок і відхилень. Якщо не вказано інше, частини є масовими частинами, молекулярна маса є середньою молекулярною масою, температура представлена в градусах Цельсія, а тиск дорівнює або приблизно відповідає атмосферному.

Приклад 1. Одержання однодомених антитіл

З метою розробки однодомених антитіл з високою афінністю зв'язування із зазначеними антигенами імунізували лам і створювали бібліотеку фагового дисплея для ідентифікації лідерів V_HH. Окремі клони довільно збирали і класифікували згідно із областю 3 (CDR3), що визначає компліментарність, важкого ланцюга, яка може відігравати важливу роль в зв'язуванні антигену

Для одержання однодомених антитіл, лам регулярно імунізували відповідними імуногенами, які могли включати в себе рекомбінантний білок ВСМА людини, що має С-кінцевий Fc-тег (ACRO Biosystems, Cat No.: BC7-H5254), рекомбінантний білок CD38 людини, що має С-кінцевий His-тег (ACRO Biosystems, Cat No.: CD8-H5224), рекомбінантний білок CD19 людини, що має С-кінцевий Fc-тег (ACRO Biosystems, Cat No.: CD9-H5229) і рекомбінантний білок CD20 людини, що має С-кінцевий Fc-тег (ACRO Biosystems, Cat No.: CD0-H526a).

Нижче описаний спосіб одержання однодомених антитіл анти-ВСМА як приклад одержання однодомених антитіл проти різних антигенів. Генерування однодомених антитіл проти CD38 людини, проти CD19 людини і проти CD20 проводили за допомогою аналогічних процесів, як описано нижче. Інші протоколи одержання однодомених антитіл описані в літературі. Див., наприклад, Els Pardon et al, Nature Protocol, 2014; 9 (3): 674.

1. Імунізація тварин і аналіз імуноної відповіді

1. 1 Імунізація тварин.

Кожен імуноген, що містить рекомбінантний антигенний білок, змішували з ад'ювантом або PBS і вводили ламі. Тварин імунізував представник компанії-постачальника (Cedarline) сім разів, як правило, застосовуючи щоразу 200 мкг імуногену і CFA (повний ад'ювант Фрейнда) з інтервалом від 1 тижня до 2 тижнів. Зразки периферичної крові збирали на етапі попередньої імунізації і після 5-ї і 7-ї імунізації. Після декількох циклів імунізації у лам оцінювали імуноної відповіді на цільовий антиген з метою визначення титру антигенспецифічних однодомених антитіл. Лімфоцити виділяли за допомогою градієнтного центрифугування з приблизно 100 мл периферичної крові. Клітини доповнювали RNALATER™ і зберігали при -80 °С. Сироватки одержували за допомогою центрифугування зразків антикоагульованої крові і зберігали при -80 °С.

1. 2 Фракціонування IgG

Фракціонування IgG на підкласи проводили згідно з типовою робочою інструкцією GenScript. Підкласи IgG фракціонували з сироватки термінальної крові із застосуванням іонітів Protein G і Protein A. Зразок 1 мл сироватки поміщали в колонку 1 мл HITRAP® Protein G HP і промивали колонку за допомогою 10 мл фосфатного буфера (20 мМ, рН 7,0). Фракцію IgG3 (MM 100 000 Да) елюювали за допомогою 0,15 М NaCl, 0,58 % оцтовою кислотою (рН 3,5) і нейтралізували елюат за допомогою 1 М Тріс-НСІ (рН 9,0) до рН 7,4. Потім фракцію IgG1 (MM 170,000 Da) елюювали за допомогою 0,1 М гліцин-НСІ (рН 2,7) і нейтралізували елюат за допомогою 1 М Тріс-НСІ (рН 8,5) до рН 7,4. Фільтрат колонки HITRAP® Protein G HP поміщали в колонку 1 мл HITRAP® Protein A HP, і промивали колонку за допомогою 10 мл фосфатного буфера (20 мМ, рН 7,0). Фракцію IgG2 (MM 100 000 Да) елюювали за допомогою 0,15 М NaCl, 0,58 % оцтовою кислотою (рН 4,5) і нейтралізували елюат за допомогою 1 М Тріс-НСІ (рН 9,0) до рН 7,4. Концентрації очищених антитіл IgG1, IgG2 і IgG3 визначали за допомогою OD280, а ступінь чистоти кожного з них оцінювали за допомогою ДСН-ПААГ-електрофорезу як у відновлюваних, так і у невідновлювальних умовах.

1. 3. Аналіз імуноної відповіді

Імуноної відповідь у лам оцінювали за допомогою ELISA, в якому зразки сироватки і очищені IgG аналізували на предмет зв'язування з іммобілізованими імуногенами. Оцінювали зразки сироваток, зібрані перед імунізацією, після 5-ї імунізації і одержані з термінальної крові. Антиген (тобто, рекомбінантний білок антигену людини) розбавляли в покриваючому буфері при концентрації 4 мкг/мл. Мікротитрувальний планшет покривали розведеним антигеном при 4 °С на ніч. Потім планшет промивали 3 рази промивним буфером з подальшим блокуванням при кімнатній температурі протягом 2 годин. Після цього планшет промивали 4 рази промивним буфером. Серії розбавлених сироваток або IgG додавали на планшет і інкубували при кімнатній температурі протягом 1,5 годин. Потім планшет промивали 4 рази промивним буфером. HRP-

кон'юговане вторинне анти-ламус антитіло IgG додавали на планшет та інкубували при кімнатній температурі протягом 1 години. Після промивання в кожну лунку додавали субстрат ТМБ та інкубували протягом 10 хвилин перед зупинкою за допомогою 1 М НСІ. Для кількісного визначення зв'язування поглинання для кожної лунки вимірювали при 450 нм за допомогою спектрометра МКЗ.

2. V_HH конструкція бібліотеки фагів дисплеїв

2. 1 Екстракція РНК

Загальну РНК екстрагували з ізольованих лімфоцитів (з 1. 1. 1) за допомогою реагенту TRIZOL® згідно з протоколом виробника. Кількість і якість загальної РНК оцінювали за допомогою гель-електрофорезу і визначали кількісно шляхом вимірювання поглинання при OD260/280.

2. 2 від-ПЛР і ампліфікація V_HH

Загальну РНК піддавали зворотній транскрипції в кДНК із застосуванням оліго(dT)₂₀ праймера за допомогою набору для синтезу 1-го ланцюга кДНК PRIMESCRIPT™ згідно з протоколом виробника. Для посилення фрагментів V_HH розроблені шість прямих і два зворотних специфічних вироджених праймери, які мали дві ділянки рестрикції BglI. Фрагменти V_HH ампліфікували згідно з типовою робочою інструкцією (SOP) GenScript, як описано нижче.

Варіабельні області важкого ланцюга імуноглобуліну (тобто, V_HH) ампліфікували за допомогою двоетапної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). У першій ПЛР 100 нг матриці кДНК змішували з праймерами CALL001 (SEQ ID NO: 229) і CALL002 (SEQ ID NO: 230). Продукти ДНК з першої реакції ПЛР аналізували за допомогою електрофорезу в агарозному гелі. Після виділення з гелю продукти ДНК першої ПЛР застосовували як матриці в другій ПЛР. Другу ПЛР виконували з праймерами BACK-1 (SEQ ID NO: 231), BACK-2 (SEQ ID NO: 232) і PMCF (SEQ ID NO: 233). Ампліфіковані продукти другої ПЛР, що містять ПЛР-фрагменти V_HH, виділяли з гелю і розщеплювали за допомогою ферменту, а потім вводили в плазмідні фагмідів. Реконбінантні плазмідні фагмідів з фрагментами гена V_HH за допомогою електричної сили переносили в клітини E. coli для створення фагового дисплея імуноної бібліотеки V_HH.

Процедура реакції ПЛР має початковий етап денатурації при 94 °C протягом 7 хв, з подальшими 30 циклами при 94 °C протягом 1 хв, 55 °C протягом 1 хв, і 72 °C протягом 1 хв; після цього – кінцевий етап подовження при 72 °C протягом 7 хв.

2. 3 Конструкція фагової бібліотеки

Продукти ПЛР V_HH одержували шляхом ампліфікації із застосуванням різних пар праймерів. Потім продукти ПЛР розщеплювали за допомогою BglI і виділяли з гелю. Виділені з гелю фрагменти вставляли в фагмідний вектор власної розробки GenScript. Для оптимізації умов лігування і трансформації сконструювали експериментальну бібліотеку. Для розробки бібліотеки фагмідів застосовували оптимізовані умови лігування і трансформації. Невелику частину трансформованих клітин розбавляли і просівали на 2×YT планшетах, доповнених 100 мкг/мл ампіциліну. З метою розрахунку розміру бібліотеки, колонії підраховували. Для оцінки якості бібліотеки випадковим чином вибирали і секвенували позитивні клони. Решту трансформованих клітин просівали на планшетах YT, доповнених 100 мкг/мл ампіциліну і 2 % глюкози. "Газони" колоній зіскоблювали з планшетів. Для виділення плазмідів з бібліотеки застосовували невелику аліквоту клітин. Решту клітин доповнювали гліцерином і зберігали при -80 °C як запас.

3. Пеннінг фагового дисплея

3. 1 Біо-пеннінг

Сконструювану фагіву бібліотеку V_HH піддавали пеннінгу на предмет реконбінантного білка ВСМА людини і клітин CHO, які експресують ВСМА людини (тобто, CHO-ВСМА, власної розробки компанії Legend Biotec) відповідно, користуючись типовою робочою інструкцією, розробленою компанією GenScript. Запас бібліотеки вирощували до логарифмічної фази, після чого бібліотеку звільняли за допомогою фагу-хелпера M13KO7 і ампліфікували протягом ночі при 25 °C в шейкері. Потім фаг осаджували за допомогою PEG/NaCl, знову суспендували в PBS і зберігали при -80 °C. Для твердофазного пеннінгу лунки мікропланшетів покривали реконбінантним білком ВСМА людини в PBS при 4 °C на ніч. Для рідкофазного пеннінгу клітини CHO-ВСМА блокували за допомогою блокуючого буфера при кімнатній температурі протягом 1 години. На етапі покривання або блокування фагів частинки попередньо інкубували з блокуючим буфером і контрольним білком Fc в лунках мікропланшетів. Після попередньої інкубації фагів частинки додавали в лунки, покриті білками ВСМА або розчином CHO-ВСМА, і інкубували протягом 1 години. Після інкубації незв'язані і неспецифічно зв'язані фаги вимивали шляхом шестиразового промивання лунок або клітин CHO-ВСМА за допомогою PBST з двома додатковими промиваннями за допомогою PBS. Зв'язані фагові частинки елюювали за допомогою 100 мМ триетиламіну (TEA), а елюат нейтралізували за допомогою 1 М Тріс-НСІ(pH

7,4). Половину елюата потім застосовували для інфікування експоненціально зростаючих TG1 клітин *E. coli* ($OD_{600}=0.4 \sim 0.6$) для початкового титрування.

3. 2 Аналіз ELISA для фагу

Аналіз ELISA для фагу проводили з метою ідентифікації клонів, специфічних для антигенів-мішеней. Окремі клони одержаного фагу вирощували в 96-лунковому планшеті і звільняли за допомогою фагу-хелпера M13KO7 протягом ночі. Для ідентифікації клонів, які зв'язуються з білками антигену, 96-лункові мікротитрувальних планшети для ELISA покривали рекомбінантним білком ВСМА людини і контрольним білком Fc відповідно в покриває буфері протягом ночі при 4 °С, після чого планшети блокували за допомогою блокуючого буфера. Після блокування, на планшети додавали приблизно 50 мкл на лунку фагового супернатанту з культури клітин, вирощеної протягом ночі, для 1,5-годинної інкубації при 4 °С. Планшети промивали чотири рази і додавали на планшети кон'юговане з HRP моноклональне антитіло анти-M13 для 45-хвилинної інкубації при 4 °С. Планшети знову промивали п'ять разів, і в лунки додавали розчин субстрату для дозрівання. Для кожної лунки вимірювали абсорбцію при 450 нм.

Для ідентифікації клонів, які зв'язують клітини CHO-BCMA, клітини CHO-BCMA блокували за допомогою блокуючого буфера при кімнатній температурі протягом 1 години. Після блокування, до розчинів клітин додавали приблизно 20 мкл на лунку фагового супернатанту з культури клітин, вирощеної протягом ночі, для 1-годинної інкубації при кімнатній температурі. Після чотириразового промивання клітин кон'юговане з HRP моноклональне антитіло анти-M13 додавали для 30-хвилинної інкубації при кімнатній температурі. Клітини промивали п'ять разів, і після цього додавали розчин субстрату для дозрівання. Абсорбцію вимірювали при 450 нм.

Після пеннінгу, ідентифікували позитивні поодинокі клони в аналізі ELISA для фагу, і з одержаного фагу готували ДНК за допомогою наборів для екстракції плазмід. Вставки в плазмідах секвенували. Для кожного антигену-мішені одержували одну або декілька послідовностей V_{NH} див., наприклад, Таблицю 2.

Приклад 2. Одержання моноспецифічних химерних антигенних рецепторів V_{NH}

Каркасна послідовність CAR, яка кодує каркасний поліпептид CAR, містить від N-кінця до C-кінця: шарнірний домен CD8 α , трансмембранний домен CD28, цитоплазматичний домен CD28, цитоплазматичний домен CD137 і цитоплазматичний домен CD3 ζ , які хімічно синтезовані і клоновані в попередньо модифікований лентівірусний вектор, розташований по ходу транскрипції, і функціонально зв'язані з конститутивним hEF1 α -промотором. Одержаний каркасний вектор CAR був названий "PLLV-hEF1 α -8281373". Множинні сайти клонування (MCS) у векторі дозволили вставити послідовність нуклеїнової кислоти, яка містить послідовність Kozak (SEQ ID NO: 26), функціонально зв'язану з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує сигнальний пептид CD8 α , злитий з N-кінцем фрагмента V_{NH} з вектором PLLV-hEF1 α -8281373, розташованим проти ходу транскрипції і функціонально зв'язаних із каркасною послідовністю CAR.

Для побудови моноспецифічного CAR, що має одиночний домен V_{NH}, за допомогою каркаса PLLV-hEF1 α -8281373, послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує домен V_{NH}, функціонально зв'язували з 3'-нуклеотидною послідовністю, що кодує сигнальний пептид CD8 α . Послідовність зливої нуклеїнової кислоти хімічно синтезували і клонували в каркас PLLV-hEF1 α -8281373 CAR за допомогою ділянок рестрикції EcoRI (SEQ ID NO: 234: 5'-GAATTC-3') і SpeI (SEQ ID NO: 235: 5'-ACTAGT-3') за допомогою молекулярних методів клонування, відомих в даній галузі техніки. У таблиці 4 перераховані вектори, які були сконструйовані для експресії типових моноспецифічних, моновалентних анти-BCMA і анти-CD38 CAR.

Для зручності подальшого вбудовування додаткових послідовностей, таких як нуклеотид, який кодує другий V_{NH}, при проектуванні конструкції моноспецифічного CAR (наприклад, анти-BCMA або анти-CD38), ділянки рестрикції, включаючи HpaI (SEQ ID NO: 236: 5'-GTTAAC-3'), MluI (SEQ ID NO: 237: 5'-ACGCGT-3'), NsiI (SEQ ID NO: 238: 5'-ATGCAT-3') ділянки були включені між послідовністю нуклеїнової кислоти сигнального пептиду CD8 α і послідовністю нуклеїнової кислоти V_{NH}.

Упаковану суміш плазмід лентівірусу, що включає pCMV- Δ R-8,74 і pMD2. G (Addgene # 12259), попередньо змішували з векторами PLLV-hEF1 α -8281373, що мають фрагменти V_{NH} (Таблиця 4) в попередньо оптимізованому співвідношенні з полієфірмідом (PEI), потім належним чином примушували та інкубували при кімнатній температурі протягом 5 хвилин. Потім трансфекційну суміш додавали по краплях до клітин HEK293 і обережно перемішували. Потім клітини інкубували протягом ночі в інкубаторі для клітин при 37 °С і 5% CO₂. Супернатанти збирали після центрифугування при 4 °С, 500 г протягом 10 хв.

Вірусомісні супернатанти фільтрували через 0,45 мкм PES-фільтр з подальшим

ультрацентрифугуванням для концентрування лентівірусів. Після ультрацентрифугування супернатанти обережно відокремлювали, а вірусні гранули акуратно ополіскували попередньо охолодженим DPBS. Вірус належним чином аліквотували, а потім відразу ж заморожували для зберігання при -80°C . Титр вірусу визначали на основі p24 за допомогою набору HTRF, розробленого компанією GenScript.

Одержання МКПК

Лейкоцити збирали зі здорових донорів шляхом аферезу, і доводили концентрацію клітин до 5×10^6 клітин/мл в середовищі R10. Потім лейкоцити змішували з 0,9 % розчином NaCl при співвідношенні 1:1 (об./об.). У 15 мл центрифугову пробірку додавали 3 мл середовища Lymphorger і повільно додавали 6 мл розведеної суміші лімфоцитів на поверхню середовища Lymphorger. Суміш лімфоцитів центрифугували при 800 g протягом 30 хвилин без перерв при 20°C . Потім лімфоцитарну плівку збирали за допомогою піпетки 200 мкл. Зібрану фракцію розбавляли щонайменше в 6 разів 0,9 % NaCl або R10 для зменшення щільності розчину. Зібрану фракцію потім центрифугували при 250 g протягом 10 хвилин при 20°C . Супернатант повністю аспіредfkb і до осаджених клітин додавали 10 мл R10 для ресуспендування клітинного осаду. Суміш потім центрифугували при 250 g протягом 10 хвилин при 20°C . Супернатант знову аспірували. В осаджені клітини додавали 2 мл попередньо нагрітого до 37°C R10 з 100 МО/мл IL-2, і клітинний осад делікатно ресуспендували. Число клітин визначали після фарбування трипановим синім, і цей зразок МКПК був готовий для подальших експериментів.

Очищення Т-клітин

Т-клітини людини очищали від МКПК за допомогою набору для виділення Т-клітин Miltenyi Pan (Miltenyi Pan T cell isolation kit) (Cat # 130-096-535) згідно з протоколом виробника, як описано нижче. В першу чергу визначали число клітин і суспензію клітин центрифугували при 300 g протягом 10 хвилин. Потім супернатант аспірували повністю, а клітинні гранули повторно суспендували в 40 мкл буфера на 10^7 загальної кількості клітин. 10 мкл суміші Т-клітинного біотину і антитіла Pan (Pan T Cell Biotin-Antibody Cocktail) додавали на 10^7 загальної кількості клітин, ретельно перемішували і інкубували протягом приблизно 5 хвилин в холодильному апараті ($2\sim 8^{\circ}\text{C}$). Потім додавали 30 мкл буфера на 10^7 загальної кількості клітин. 20 мкл суміші Т-клітинних мікрогранул Pan (Pan T Cell MicroBead Cocktail) додавали на 10^7 клітин. Суміш суспензії клітин добре перемішували і інкубували протягом ще 10 хвилин в холодильному апараті ($2\sim 8^{\circ}\text{C}$). Для розділення в магнітному полі потрібно мінімум 500 мкл. Для розділення в магнітному полі колонку LS поміщали в магнітне поле відповідного сепаратора MACS. Колонку готували шляхом промивання 3 мл буфера. Суспензію клітин потім наносили на колонку і збирали фільтрат, що містить немічені клітини, які представляли собою фракції збагачених Т-клітин. Додаткові Т-клітини одержували шляхом промивання колонки 3 мл буфера і збирання немічених клітин, які потрапляли в фільтрат. Як і в попередньому випадку, ці немічені клітини представляли собою збагачені Т-клітини і були об'єднані з фільтратом, одержаним на попередньому етапі. Об'єднані збагачені Т-клітини потім центрифугували і повторно суспендували в R10+100 МО/мл IL-2.

Підготовлені Т-клітини потім попередньо активували протягом 48-96 годин за допомогою набору для активації/розмноження Т-клітин людини (Miltenyi # 130-091-441) згідно з протоколом виробника, в якому частинки MACSiBead анти-CD3/CD28 додавали в співвідношенні "гранула-клітина" 1: 2.

Попередньо активовані Т-клітини трансдукували лентівірусним матеріалом в присутності 7 мкг/мл поліброну шляхом центрифугування при 1200 g, 32°C протягом 1,5 год. Трансдуковані клітини потім переносили в інкубатор для клітинної культури з метою експресії трансгену в придатних умовах.

На день 3 або день 7 після трансдукції трансдуковані Т-клітини збирали і спільно інкубували з пухлинними клітинами протягом 20 годин при співвідношенні ефекторних клітин (CAR-T) і клітин-мішеней 20:1. Клітинами-мішенями були або лінія клітин множинної мієломи людини RPMI8226.Luc, або лінія клітин гліобластоми людини U87MG.Luc, при цьому обидві лінії клітин були сконструйовані на власній базі для експресії люциферази світлячків. Для аналізу цитотоксичності CAR-T, спрямованої на пухлинні клітини, реагенти для аналізу люмінесценції люциферази One-glo (Promega # E6110) готували згідно із протоколом виробника і додавали до спільно культованих клітин для виявлення залишкової активності люциферази в лунці. Оскільки люцифераза експресується тільки в клітинах RPMI8226.Luc або U87MG.Luc, то залишкова активність люциферази в лунці безпосередньо корелює з кількістю життєздатних клітин-мішеней в лунці. Максимальну активність люциферази одержували шляхом додавання культуральної середовища до клітин-мішеней під час відсутності ефекторних клітин. Мінімальну активність люциферази визначали додаванням Triton X-100 при кінцевій концентрації 1 % в той

момент, коли починали дослідження цитотоксичності. Специфічну цитотоксичність розраховували за формулою: Специфічна цитотоксичність $\% = 100 \% * (1 - (RLU \text{ зразка} - RLU_{\min}) / (RLU_{\max} - RLU_{\min}))$.

Моноспецифічні клони CAR, націлені на BCMA (CD269), кодували, починаючи з цифр "269", в той час як моноспецифічні клони CAR, націлені на CD38, кодували аналогічно, починаючи з цифр "38". Як показано на Фіг. 2A, відібрані клони проявляли різні рівні цитотоксичності на лінії клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc. з більш ніж 60 % моноспецифічних CAR-T на основі V_HH, що демонструють > 50 % цитотоксичності, що спрямована на клітини RPMI8226.Luc. Клони CAR-T на основі 269A37346, 269A37348, 269A37353, 269A37355, 38A37326, 38A37331, 38A37717 і 38A37719 відбирали для подальшого дослідження. Зокрема, клони CAR-T на основі 269A37346, 269A37348, 267A37353, 269A37355, 38A37326, 38A37331, 38A37717 проявляли сильну цитотоксичність на лінію клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc з більш ніж 20 %-30 % підвищенням рівня загибелі клітин RPMI8226.Luc, що зумовлена CAR-T, в порівнянні з нетрансдукованими контрольними T-клітинами (UnT). Проте, таке підвищення цитотоксичності не спостерігали на лінії клітин гліобластоми людини U87MG.Luc (див. Фіг. 2B). Не виявлено ніяких достовірних ефектів цитотоксичності, які проявляються моноспецифічними CAR-T-клітинами на основі V_HH, на клітини U87MG.Luc, в порівнянні з контрольними UnT. Спостереження, описані вище, продемонстрували, що деякі з цих клонів можуть бути цілеспрямованими і мають вплив на BCMA- або CD38-позитивні клітини.

Приклад 3. Одержання типових біспецифічних або полівалентних хімерних антигенних рецепторів

Потенційно активні клони, як описано в Прикладі 2, також можуть бути належними кандидатами для генерації біспецифічних або полівалентних CAR на основі V_HH. Два репрезентативних клони V_HH (анти-BCMA V_HH клон 269A37346 і анти-CD38 V_HH клон 38A37717) були відібрані для побудови різних типових конструкцій CAR.

BCMA×CD38 CAR на основі V_HH можуть бути згенеровані шляхом комбінування V_HH, специфічних для BCMA, і V_HH, специфічних для CD38, за допомогою придатного пептидного лінкера (наприклад, полімеру Gly-Ser), з подальшою вставкою каркасного вектора сигнального домену CAR. Типові біспецифічні конструкції BCMA×CD38 CAR (GSI5001-GSI5010) наведені в Таблиці 6. Спочатку амінокислотну послідовність анти-BCMA V_HH і анти-CD38 V_HH зв'язували разом за допомогою лінкера Gly-Ser, який може мати різну довжину. Потім зв'язану амінокислотну послідовність поміщали після послідовності сигнального пептиду CD8. Цю комбіновану послідовність, що включає в себе сигнальний пептид Kozak-CD8α і біспецифічний V_HH, безпосередньо синтезували і клонували в каркас PLLV-hEF1α-81373 CAR за допомогою ділянок рестрикції EcoRI and SpeI, згідно із загальноприйнятими протоколами молекулярного клонування, відомими в даній галузі техніки. Каркасна послідовність CAR, що кодує каркасний поліпептид CAR, містить від N-кінця до C-кінця: шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, цитоплазматичний домен CD137 і цитоплазматичний домен CD3ζ, які хімічно синтезовані і клоновані в попередньо модифікований лентівірусний вектор, розташований по ходу транскрипції, і функціонально зв'язані з конститутивним hEF1α-промотором. Одержаний каркасний вектор CAR був названий "PLLV-hEF1α-81373".

Крім того, типовий вектор коекспресії, що кодує BCMA CAR і CD38 CAR, конструювали шляхом комбінування CAR на основі V_HH, специфічного для BCMA, і CAR на основі V_HH, специфічного для CD38, в одному векторі CAR за допомогою придатного лінкера на основі сплайсингу (T2A, P2A або F2A). Наприклад, конструкція GSI5013 має послідовність нуклеїнової кислоти SEQ ID NO: 239. Послідовність нуклеїнової кислоти в GSI5013 кодує від 5' до 3' кінця: сигнальний пептид CD8α, 38A37717 V_HH, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий домен CD137, цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ, T2A, сигнальний пептид CD8α, 269A37346 V_HH, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, спів-стимулюючий домен CD137 і цитоплазматичний сигнальний домен CD3α.

Полівалентні V_HH CAR можна сконструювати шляхом введення послідовності нуклеїнової кислоти, що кодує декілька копій одного V_HH, злитого з кожним іншим за допомогою пептидних лінкерів, в каркасний вектор сигнального домену CAR. Типові полівалентні конструкції CAR (GSI5014, GSI5015, GSI5016, GSI5017) наведені в Таблиці 5. Ці конструкції одержували шляхом зв'язування 2-3 копій V_HH за допомогою гліцин-серинового лінкера з подальшим безпосереднім синтезом цієї пов'язаної послідовності в комбінації з послідовністю нуклеїнової кислоти сигнального пептиду Kozak-CD8α, і клонуванням в каркас PLLV-hEF1α-81373 CAR за допомогою ділянок рестрикції EcoRI і SpeI. Як контролі, одну копію V_HH також клонували в один і той же каркас PLLV-hEF1α-81373 CAR за допомогою аналогічних способів (GSI5011 і GSI5012, перераховані в Таблиці 4).

Лентівірусні вектори, що несуть гени CAR GSI5001-GSI5017, упаковували і титрували згідно з протоколами, як описано в Прикладі 2. Застосовуючи протоколи, описані в Прикладі 2, МКПК людини одержували з периферичної крові добровольців для подальшого виділення первинних Т-клітин людини за допомогою наборів для виділення Т-клітин людини Miltenyi Pan (Miltenyi human PanT cell isolation kit). Очищені Т-клітини попередньо активували і розмножували із застосуванням мікрогранул анти-CD3/CD28 Miltenyi, як описано в Прикладі 2. Після цього попередньо активовані Т-клітини трансдукували лентівірусним матеріалом в присутності 7 мкг/мл поліброну шляхом центрифугування при 1200 g, 32 °C протягом 1,5 год. Трансдуковані клітини потім переносили в інкубатор для клітинної культури з метою експресії трансгену в придатних умовах.

На день 3 після трансдукції трансдуковані Т-клітини збирали і спільно інкубували з пухлинними клітинами протягом 20 годин при співвідношенні ефektorних клітин (CAR-T) і клітин-мішеней 20:1. Для аналізу цитотоксичності CAR-T, спрямованої на пухлинні клітини, реагенти для аналізу люмінесценції люциферази One-glo (Promega # E6110) додавали до спільно культивованих клітин і вимірювали специфічну цитотоксичність для кожного CAR-T, як описано в Прикладі 2.

Число копій інтегрованих генів CAR для кожної групи визначали за допомогою напівкількісного методу ПЛР (кільк.-ПЛР). Якщо коротко, геномні ДНК з кожної групи CAR-T одержували за допомогою набору Gentra Puregene Cell Kit (Qiagen). Концентрацію геномної ДНК визначали за допомогою Nanodrop, а зразок 10 нг геномної ДНК для стандартизованого аналізу методом кільк.-ПЛР обробляли SYBR Green Realtime PCR Master mix plus (Toyobo) на пристрої q-PCR ABI # 7300 із застосуванням специфічних праймерів CAR (прямий праймер 137P2F (SEQ ID NO: 252): 5'-GTCCTTCTCCTGTCACTGGTTAT-3'; і зворотній праймер 137P2R (SEQ ID NO: 253): 5'- TCTTCTTCTTCTGGAAATCGGCA-3'). Відносна кількість копій кожного інтегрованого гену CAR вираховували на основі стандартної кривої, одержаної за допомогою плазміди, що містить цільові послідовності.

В Таблиці 7 нижче вказані кількості копій кожного препарату CAR-T, при цьому дані припускали інтеграцію високоцільового гену в геном Т-клітин.

Таблиця 7

Кількість копій інтегрованого геному

CAR Т-клітини з конструкціями	Копії/нг гДНК
GSI5001	18257060
GSI5002	15105810
GSI5003	17307510
GSI5004	2735165
GSI5005	Не оброблено
GSI5006	6692277
GSI5007	6929693
GSI5008	15549250
GSI5009	10602720
GSI5010	7353348

30

Продовження Таблиці 7

GSI5011	3089537
GSI5012	6505513
GSS005	1070972
GSI005	321521
UnT	72,77
вода	117

Як проілюстровано на Фіг. 3А-3В, моноспецифічний V_HH CAR проти BCMA (GSI5011) і моноспецифічний V_HH CAR проти CD38 (GSI5012) продемонстрували сильну цитотоксичність, спрямовану на лінію клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc. У випадку з GSI5011 CAR, лізувалися 42,98±2,86 % клітин RPMI8226.Luc, а у випадку з GSI5012, лізувалися 61,25±1,92 % клітин RPMI8226.Luc, в порівнянні з неспецифічним лізисом, зумовленим нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT, 9,25±1,11 %).

Біспецифічні CAR GSI5001-GSI5010 зумовлювали потужний специфічний лізис лінії клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc в порівнянні з нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT). Як ілюстровано на Фіг. 3А і 3В, відсоток специфічного лізису клітин RPMI8226.Luc становив 98,91±0,17 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5001, 97,10±0,26 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5002, 93,85±0,69 % для CAR-Т клітин, що експресують GSI5003, 82,81±2,40 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5004, 98,95±0,66 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5005, 93,91±1,25 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5006, 96,49±1,05 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5007, 94,41±0,75 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5008, 90,72±0,62 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5009, і 85,05±2,69 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5010, в порівнянні з неспецифічним лізисом, зумовленим нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT, 9,25±1,11 %). Ці результати також свідчили про те, що більш короткий лінкер Gly-Ser, напевно, демонструє більш високий ступінь цитотоксичності, спрямований на пухлинні клітини-мішені. Для вивчення таких ефектів в умовах субоптимального аналізу можна проводити додаткові дослідження. Більш того, порядок анти-BCMA V_HH і анти-CD38 V_HH у векторі не чинив суттєвого впливу на кінцевий ступінь цитотоксичності в клітинах RPMI8226.Luc. В аналізі також готували дві CAR-Т-клітини на основі scFv, в яких GSS005 був анти-BCMA CAR на основі scFv, а GSI006 був анти-CD38 CAR на основі scFv. Як GSS005, так і GSI005 продемонстрували сильний специфічний лізис, спрямований на клітини RPMI8226.Luc (57,94±1,91 % для GSS005; 61,25±1,92 % для GSI005).

Були підготовлені сконструйовані Т-клітини з моновалентним CAR, специфічним до BCMA (GSI5011), двовалентним CAR, специфічним до BCMA (GSI5012), або тривалентним CAR, специфічним до BCMA (GSI5013), і сконструйовані Т-клітини з моновалентний CAR, специфічним до CD38 (GSI5012), двовалентним CAR, специфічним до CD38 (GSI5016) або тривалентним CAR, специфічним до CD38 (GSI5017), при цьому аналізи цитотоксичності проводили на клітинах RPMI8226.Luc, як описано вище. Як проілюстровано на ФІГ. 4, відсоток специфічного лізису клітин RPMI8226.Luc становив 63,25±2,64 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5011, 61,04±2,75 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5014, і 59,57±2,64 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5015, в порівнянні з неспецифічним лізисом (0,05 % ± 2,33 %), зумовленим нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT). Також, як проілюстровано на ФІГ. 4, відсоток специфічного лізису клітин RPMI8226.Luc, зумовленого анти-CD38 V_HH CAR-Т, становив 95,79±0,62 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5012, 94,16±0,31 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5016, і 97, 61±0,77 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5015, в порівнянні з неспецифічним лізисом (57,92 % ± 2,88 %), зумовленим нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT). Наведені дані свідчать про те, що ці CAR з різними антигензв'язуючими модальностями мають сильну протипухлинну активність, спрямовану на BCMA-позитивні клітини.

Приклад 4. Одержання, аналізи in vitro і in vivo типового CD19 × CD20 CAR

Типові анти-CD19 sdAb і анти-CD20 sdAb одержували за допомогою аналогічних процедур, описаних в Прикладі 1. Ці однодомні антитіла наведені в Таблиці 2. Моноспецифічний CD19 CAR на основі CD19 V_HH і моноспецифічний CD20 CAR на основі CD20 V_HH одержували, як описано в Прикладі 2, і наведений в Таблиці 4. Типовий біспецифічний CD19 × CD20 CAR на основі CD19 V_HH і CD20 V_HH сконструювали, як описано в Прикладі 3, і наведений в Таблиці 6. Каркашний вектор CAR, застосовуваний для побудови типового CD19 CAR, CD20 CAR і CD19×CD20 CAR, кодує від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8α, шарнірний будинку н

CD8 α , трансмембранний домен CD28, цитоплазматичний домен CD28 і цитоплазматичний домен CD3 ζ . На ФІГ. 5 проілюстровані конструкції CD19 CAR, CD20 CAR і біспецифічного CD19 \times CD20 CAR. Сконструйовані CAR-T-клітини, які експресують CD19 CAR, CD20 CAR або біспецифічний CD19 \times CD20 CAR, одержували, як описано в Прикладі 2.

5 Цитотоксичність CAR-T-клітин визначали в 4-годинному аналізі спільного культивування. В експериментах, підготовлені CAR-T-клітини центрифугували, потім розбавляли до бажаних концентрацій DPBS з 10 % сироваткою АВ людини і культивували на 96-лункових планшетах. Пухлинні клітини Раджі (Raji), які, як відомо, виявляють сильну експресію CD19 і CD20, позначали Calcein-AM (BD Biosciences). Мічені CAR-T-клітини і клітини Раджі культивували
10 протягом 4 годин при 37 °С при співвідношенні ефекторних клітин і клітин-мішеней 10:1. Згодом цитотоксичність CAR-T-клітин визначали за допомогою FACS.

Як проілюстровано на ФІГ. 6, верхня ліва панель, нетрансдуковані Т-клітини не зумовлювали значимого лізису клітин Раджі. Цитотоксичність в клітинах Раджі становила приблизно 40 % і зумовлювалася або CD19- (39 %, верхня права панель), або CD20- (41 %, нижня ліва панель) моноспецифічними V_HH CAR-T-клітинами. Коли ті ж самі CD19 V_HH і CD20 V_HH з'єднували для одержання домену, який функціонував як позаклітинний антигензв'язуючий домен в тій же конструкції, тобто, в CD19 \times CD20 біспецифічних CAR-T-клітинах, цитотоксичність в пухлинних клітинах Раджі (75,24 %) підвищувалася в порівнянні з моноспецифічними CD19 V_HH CAR-T або CD20 V_HH CAR-T-клітинами (ФІГ. 6, нижня права панель).

20 Дослідження моделей пухлини миші

Мишам лінії NOG вводили 4 \times 10⁶ клітин Раджі на мишу шляхом ін'єкції в хвостову вену. Через 10 днів мишей випадковим чином розділяли на чотири рівні групи, при цьому кожній групі вводили еквівалентні дози нетрансдукованих Т-клітин, CD19 CAR-T-клітин, CD20 CAR-T-клітин, або CD19 \times CD20 біспецифічних CAR-T-клітин, відповідно, і спостерігали безперервно протягом
25 5 тижнів.

Як проілюстровано на Фіг. 7, одержані дані виживання *in vivo* давали підставу припустити, що показник загальної виживаності для мишей, які отримували CD19 \times CD20 біспецифічні CAR, був вище, ніж у мишей, які отримували CD19- або CD20- моноспецифічні CAR-T-клітини.

30 Приклад 5. Одержання типових моноспецифічних двовалентних CAR, що мають два різних домени, що зв'язують ВСМА

Потенційно активні клони V_HH, як описано в Прикладі 2, також можна застосовувати для одержання моноспецифічних, полівалентних CAR, що володіють двома або більшою кількістю різних доменів, що зв'язуються з мішенню, у позаклітинному антигензв'язуючому домені. Два репрезентативних клони анти-ВСМА sdAb (клон 269A37353 і клон 269A37917) були відібрані для побудови різних типових моноспецифічних двовалентних конструкцій CAR, описаних в даному прикладі.

Двовалентні CAR, націлені на ВСМА (тобто, двовалентні ВСМА CAR), можна згенерувати шляхом злиття двох різних ВСМА-специфічних доменів V_HH за допомогою придатного пептидного лінкера (наприклад, полімеру Gly-Ser), з подальшою вставкою зливої конструкції в каркасний вектор сигнального домену CAR. Типові двовалентні конструкції ВСМА CAR (GSI5021-GSI5026), що мають два різних домени 269A37353 і 269A37917, що зв'язуються з ВСМА, наведені в Таблиці 5. У різних конструкціях застосовували пептидні лінкери різної довжини. Кожна з конструкцій GSI5021-GSI5023 кодувала від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , 269A37353, пептидний лінкер, 269A37917, шарнір CD8 α , трансмембранний домен CD8 α і цитоплазматичний домен людини CD3 ζ . Кожна з конструкцій GSI5024-GSI5026 кодувала від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8 α , 269A37917, пептидний лінкер, 269A37353, шарнір CD8 α , трансмембранний домен CD8 α , цитоплазматичний домен CD137 і цитоплазматичний домен людини CD3 ζ . Кожну конструкцію додатково зливали з послідовністю Kozak на 5' кінці з метою одержання повної кодувальної послідовності. Повну кодувочу послідовність безпосередньо синтезували і клонували в каркас PLLV-hEF1 α -81373 CAR за допомогою ділянок рестрикції EcoRI і SpeI згідно з загальноприйнятими протоколами молекулярного клонування, відомими в даній галузі техніки. Навпаки, моноспецифічні, моновалентні CAR (GSI5019 і GSI5020, перераховані в Таблиці 4), що мають один і той же каркас сигнального домену CAR, конструювали за допомогою аналогічних методів.

55 Лентівірусні вектори, що несуть кожну конструкцію CAR GSI5019-GSI5026, упаковували і титрували згідно з протоколами, як описано в Прикладі 2. Застосовуючи протоколи, описані в Прикладі 2, МКПК людини одержували із зразків периферичної крові добровольців для подальшого виділення первинних Т-клітин людини за допомогою наборів для виділення Т-клітин людини Miltenyi Pan (Miltenyi human PanT cell isolation kit). Очищені Т-клітини попередньо
60 активували і розмножували із застосуванням мікрогранул анти-CD3/CD28 Miltenyi, як описано в

Прикладі 2.

Після цього попередньо активовані Т-клітини трансдукували лентівірусним матеріалом в присутності 7 мкг/мл полібрену шляхом центрифугування при 1200 г, 32 °С протягом 1,5 год. Трансдуковані клітини потім переносили в інкубатор для клітинної культури з метою експресії трансгену в придатних умовах.

На день 3 після трансдукції трансдуковані Т-клітини збирали і спільно інкубували з пухлинними клітинами (клітини RPMI8226.Luc або клітини U87MG.Luc) протягом 20 годин при співвідношенні ефекторних клітин (CAR-T) і клітин-мішеней 20:1. Клітини RPMI8226.Luc є клітинами множинної мієломи, які експресують люциферазу, і є ВСМА-позитивними. Клітини U87MG.Luc є клітинами гліобластоми, які експресують люциферазу, і є ВСМА-негативними. Для аналізу цитотоксичності CAR-T, спрямованої на пухлинні клітини, реагенти для аналізу люмінесценції люциферази One-glo (Promega # E6110) додавали до спільно культивованих клітин і вимірювали специфічну цитотоксичність для кожного CAR-T, як описано в Прикладі 2.

Як проілюстровано на Фіг. 8А, відсоток специфічного лізису клітин RPMI8226.Luc становив 88,21±1,29 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5019, 93,84±1,13 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5020, 71,45±1,79 % для CAR-T клітин, що експресують GSI5021, 99,80±0,45 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5022, 97,46±0,50 % для CAR-T-клітин, експресують GSI5023, 81,29±1,27 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5024, 93,50±0,47 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5025, 87,83±0,23 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5026, відповідно, в порівнянні з нетрансдукованими контрольними Т-клітинами – 13,49 % ± 1,75 % (UnT). Також, як проілюстровано на Фіг. 8В, відсоток специфічного лізису ВСМА-негативної лінії клітин U87MG.Luc склав 2,84±7,41 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5019, 15,50±2,24 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5020, 6,74±3,37 % для CAR-T клітин, що експресують GSI5021, 8,03±2,36 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5022, 9,00±1,88 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5023, 17,03±2,27 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5024, 16,81±1,98 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5025, -11,55±5,43 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5026, в порівнянні з нетрансдукованими контрольними Т-клітинами – 12,49 % ± 3,79 % (UnT). Наведені дані свідчать про те, що полівалентні CAR з різними антигензв'язуючими модальностями мають сильну протипухлинну активність, спрямовану на ВСМА-позитивні клітини, але не на ВСМА-негативні клітини.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> ЛЕДЖЕНД БАЙОТЕК АЙРЛЕНД ЛІМІТЕД
 ФАН Сяоху
 ЧОУ Чуан-чу
 ЧЖУАНГ Цючуань
 ВАН Пінгуань
 ВАН Лінь
 ЯН Лей
 ХАО Цзяїн

<120> ХИМЕРНІ РЕЦЕПТОРИ АНТИГЕНІВ НА ОСНОВІ ОДНОДОМЕННИХ АНТИТІЛ І СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> 761422000340

<140> Ще не призначено

<141> Одночасно з цим

<160> 277

<170> FastSEQ для windows версія 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD19 однодоменне антитіло VHH CDR1

<400> 1

Ile Asn Arg Met Gly
 1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD19 однодоменне антитіло VHH CDR2

<400> 2

Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD19 однодоменне антитіло VHH CDR3

<400> 3

Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr
 1 5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD20 однодоменне антитіло VHH CDR1

<400> 4
Ile Gly Thr Met Gly
1 5

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD20 однодоменне антитіло VHH CDR2

<400> 5
Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD20 однодоменне антитіло VHH CDR3

<400> 6
Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala
1 5 10 15
Val Tyr Asp Tyr
20

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> BCMA 269A37346 VHH CDR1

<400> 7
Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
1 5 10

<210> 8
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> BCMA 269A37348 VHH CDR1

<400> 8
Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37917 VHH CDR1

<400> 9

Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37355 VHH CDR1

<400> 10

Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn Ala Met Gly
1 5 10

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37915 VHH CDR1

<400> 11

Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly
1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37936 VHH CDR1

<400> 12

Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val
1 5 10

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH CDR1

<400> 13

Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly
1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH CDR1

<400> 14
 Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp His Met Ala
 1 5 10

<210> 15
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37972 VHH CDR1

<400> 15
 Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala
 1 5 10

<210> 16
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37353 VHH CDR1

<400> 16
 Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
 1 5 10

<210> 17
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37948 VHH CDR1

<400> 17
 Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala
 1 5 10

<210> 18
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37346 VHH CDR2

<400> 18
 Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 19
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37348 VHH CDR2

<400> 19
 Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser

1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> ВСМА 269A37917 VHH CDR2

<400> 20
Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> ВСМА 269A37355 VHH CDR2

<400> 21
Ser Ile Arg Gly Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> ВСМА 269A37915 VHH CDR2

<400> 22
Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> ВСМА 269A37936 VHH CDR2

<400> 23
Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37953 VHH CDR2

<400> 24

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 25

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37965 VHH CDR2

<400> 25

Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu
 1 5 10 15
 Gly

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37972 VHH CDR2

<400> 26

Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37353 VHH CDR2

<400> 27

Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH CDR2

<400> 28

Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 29
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37346 VHH CDR3

<400> 29
 Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe
 1 5 10

<210> 30
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37348 VHH CDR3

<400> 30
 Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
 1 5 10 15
 Asp Tyr

<210> 31
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37917 VHH CDR3

<400> 31
 Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
 1 5 10

<210> 32
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37355 VHH CDR3

<400> 32
 Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr
 1 5 10

<210> 33
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37915 VHH CDR3

<400> 33
 Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
 1 5 10

<210> 34
 <211> 17

<212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> BCMA 269A37936 VHH CDR3
 <400> 34
 Ala Ser Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr
 1 5 10 15
 Arg

<210> 35
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> BCMA 269A37953 VHH CDR3
 <400> 35
 Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
 1 5 10

<210> 36
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> BCMA 269A37965 VHH CDR3
 <400> 36
 Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr
 1 5 10

<210> 37
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> BCMA 269A37972 VHH CDR3
 <400> 37
 Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr
 1 5 10

<210> 38
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> BCMA 269A37353 VHH CDR3
 <400> 38
 Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser
 1 5 10

<210> 39
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37948 VHH CDR3

<400> 39

Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala
 1 5 10

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37333 VHH CDR1

<400> 40

Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Met
 1 5 10

<210> 41

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH CDR1

<400> 41

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Tyr
 1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH CDR1

<400> 42

Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn Ala Met Gly
 1 5 10

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH CDR1

<400> 43

Ser Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe Arg Val Phe Ala Met Ser
 1 5 10

<210> 44

<211> 11

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH CDR1

<400> 44
 Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly
 1 5 10

<210> 45
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37719 VHH CDR1

<400> 45
 Ser Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu Pro Met Gly
 1 5 10

<210> 46
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37330 VHH CDR1

<400> 46
 Ser Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met Ala
 1 5

<210> 47
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37334 VHH CDR1

<400> 47
 Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Gly
 1 5 10

<210> 48
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37730 VHH CDR1

<400> 48
 Ser Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly
 1 5 10

<210> 49
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37340 VHH CDR1

<400> 49
 Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala
 1 5 10

<210> 50
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37731 VHH CDR1

<400> 50
 Ser Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser Thr Met Gly
 1 5 10

<210> 51
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37326 VHH CDR1

<400> 51
 Ser Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly
 1 5

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37333 VHH CDR2

<400> 52
 Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 53
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37336 VHH CDR2

<400> 53
 Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 54
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37699 VHH CDR2

<400> 54
 Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 55
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37331 VHH CDR2

<400> 55
 Ser Ile Ser Ser Gly Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 56
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37717 VHH CDR2

<400> 56
 Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly
 1 5 10 15

<210> 57
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37719 VHH CDR2

<400> 57
 Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 58
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37330 VHH CDR2

<400> 58
 His Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 59
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37334 VHH CDR2

<400> 59
 Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 60

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD38 38A37730 VHH CDR2
 <400> 60
 Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 61
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD38 38A37340 VHH CDR2
 <400> 61
 Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 62
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD38 38A37731 VHH CDR2
 <400> 62
 Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 63
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD38 38A37326 VHH CDR2
 <400> 63
 Thr Ile Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 64
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD38 38A37333 VHH CDR3
 <400> 64
 Ile Leu Gly Leu Pro Thr
 1 5

<210> 65
 <211> 18
 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37336 VHH CDR3

<400> 65

Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp Phe
 1 5 10 15
 Gly Ser

<210> 66

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37699 VHH CDR3

<400> 66

Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr
 1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37331 VHH CDR3

<400> 67

Ala Asp His Thr Phe Thr Gly Asp Phe
 1 5

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37717 VHH CDR3

<400> 68

Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
 1 5

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37719 VHH CDR3

<400> 69

Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr
 1 5

<210> 70

<211> 19

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37330 VHH CDR3
 <400> 70
 Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn
 1 5 10 15
 Tyr Asp Tyr

<210> 71
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37334 VHH CDR3
 <400> 71
 Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr
 1 5 10 15

<210> 72
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37730 VHH CDR3
 <400> 72
 Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly Asp Arg Ile Val
 1 5 10

<210> 73
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37340 VHH CDR3
 <400> 73
 Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr
 1 5 10

<210> 74
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37731 VHH CDR3
 <400> 74
 Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala Ser Ala Tyr Asp Tyr
 1 5 10

<210> 75
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37326 VHH CDR3

<400> 75
 Ala Gly Lys Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr
 1 5 10

<210> 76
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD19 однодоменне антитіло VHH

<400> 76
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Ile Asn
 20 25 30
 Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Ala Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
 85 90 95
 Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 77
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD20 однодоменне антитіло VHH

<400> 77
 Pro Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly Ile Gly
 20 25 30
 Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn
 100 105 110
 Pro Ala Val Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 78
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37346 VHH

<400> 78

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
 35 40 45
 Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 79

<211> 128

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37348 VHH

<400> 79

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met
 65 70 75 80
 Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala
 100 105 110
 Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 80

<211> 118

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMA 269A37917 VHH

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly
 20 25 30
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
 35 40 45
 Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg
 50 55 60
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met
 65 70 75 80
 Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp
 85 90 95
 Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

Gln Val Thr Val Ser Ser 100 110
 115

<210> 81
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37355 VHH

<400> 81
 Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Arg Gly Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
 85 90 95
 Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 82
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37915 VHH

<400> 82
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile
 20 25 30
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 83
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37936 VHH

<400> 83
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly

```

1           5           10           15
Ser Leu Thr Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala
    20           25           30
Val Ile Val Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val
    35           40           45
Ser Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu
    50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ile Ala Lys Asn Thr Val Tyr
    65           70           75           80
Leu Gln Met Lys Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
    85           90           95
Ala Ala Ser Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile
    100          105          110
Tyr Arg Trp Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
    115          120          125

```

<210> 84
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37953 VHH

```

<400> 84
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Ala Gly Asp
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp
    20           25           30
Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
    35           40           45
Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val
    50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
    65           70           75           80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
    85           90           95
Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
    100          105          110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
    115

```

<210> 85
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37965 VHH

```

<400> 85
Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp
    20           25           30
His Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
    35           40           45
Ala Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val
    50           55           60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
    65           70           75           80
Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
    85           90           95
Ala Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln
    100          105          110
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
    115          120

```

<210> 86
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37972 VHH

<400> 86
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn
 20 25 30
 Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys
 85 90 95
 Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 87
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37353 VHH

<400> 87
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His
 20 25 30
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 88
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37948 VHH

<400> 88
 Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 89
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37333 VHH

<400> 89
 Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Pro Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Arg Ile Leu Gly Leu Pro Thr Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
 100 105 110
 Ser Ser

<210> 90
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37336 VHH

<400> 90
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Met Ser Thr Leu Leu
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp
 100 105 110
 Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 91

<211> 115
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37699 VHH

<400> 91
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
 85 90 95
 Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 92
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37331 VHH

<400> 92
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe
 20 25 30
 Arg Val Phe Ala Met Ser Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg
 35 40 45
 Glu Leu Val Ala Ser Ile Ser Ser Gly Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Asn Ala Asp His Thr Phe Thr Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 93
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37717 VHH

<400> 93
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr
 20 25 30
 Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser

50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg
 85 90 95
 Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 94
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37719 VHH

<400> 94
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu
 20 25 30
 Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Val Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg
 85 90 95
 Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 95
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37330 VHH

<400> 95
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met
 20 25 30
 Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala His
 35 40 45
 Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly
 50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 65 70 75 80
 Met Asn Met Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
 85 90 95
 Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 96
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37334 VHH

<400> 96

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Glu Glu Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Gly Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 97

<211> 120

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37730 VHH

<400> 97

Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Thr Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ala Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Arg
 85 90 95
 Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly Asp Arg Ile Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 98

<211> 123

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37340 VHH

<400> 98

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ala Lys Met Asn Thr Val
 65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 99
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37731 VHH

<400> 99
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser
 20 25 30
 Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
 85 90 95
 Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala Ser Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ala Ser
 115 120

<210> 100
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37326 VHH

<400> 100
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly
 20 25 30
 Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Thr Ile
 35 40 45
 Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 50 55 60
 Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Lys
 85 90 95
 Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 101
 <211> 351
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD19 однодоменне антитіло VHH

<400> 101
 caggtaaagc tggaggagtc tgggggagaa ttggtgcagc ctggggggcc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctcgggaaa cactctcagt atcaatcgca tgggctggta ccgccaggct 120
 ccagggaaagc agcgcgcggt cgtcgcctct attactgttc gtgggtataac aaactatgca 180
 gactccgtga agggccgatt caccatttct gtagacaagt ccaaaaaaac gatttatctg 240
 cagatgaacg cactcaaacc tgaggacacg gccgtctatt attgtaatgc agtgtcttca 300
 aacagggacc ccgactactg gggccagggg acccagggtca ccgtctcctc a 351

<210> 102
 <211> 387
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD20 однодоменне антитіло VHH

<400> 102
 ccggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtgcagg ctgggggattc tctgagactc 60
 tcctgtgctg cctctggacg caccttcggg atttggtacca tgggctgggt ccgccaacct 120
 ccagggaaagc agcgtgaatt tgtagcagct attaggtgga gtactgggtg cactcgtctat 180
 gcagactccg tgaagggccc attcaccatc tcccagagaca acgccaagct cacggtagat 240
 ctgcaaatgg acagcctgaa acctgaagac acggccggtt attactgtgc agcagataga 300
 ctgtcccttg atttaagtgg tcgttaccac tacaaccccg ccgtgtatga ctattggggc 360
 caggggaccs aggtcaccgt ctctca 387

<210> 103
 <211> 366
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37346 VHH

<400> 103
 cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtgcagc ctggggggttc tctgagactc 60
 tcctgtgaag cctctggatt cactttggat tattatgcc a taggctgggt ccgccaggcc 120
 ccagggaaagc agcgcgaggg ggtcatatgt attagtagaa gtgatggtag cacatactat 180
 gcagactccg tgaagggccc attcaccatc tccagagaca acgccaagaa aacgggtgat 240
 ctgcaaatga tcagcctgaa acctgaggac acggccgctt attactgtgc agcagggggc 300
 gattgttcgg ggtacctacg agattatgag ttccgggggc aggggaccca ggtcaccgtc 360
 tcctca 366

<210> 104
 <211> 384
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37348 VHH

<400> 104
 caggtaaagc tggaggagtc tgggggacga ttggtgcagc caaggggctc tctgagactc 60
 tcctgtgcag gctctggacg cactttcagt acctatggta tggcctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagc agcgtgagtt cgtagcgtct aaagcaltca tgaattacag cggtagaaca 180
 tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatcgcca gagacaacgc caagaacatg 240
 gtgtttctgc aatgaacaa cctgaagcct gaggacacgg ccgtttatta ctgtgcagcg 300
 ggcactggat gctcaacata tgggtggttt gacgcccaga taatagacta ctggggcaaa 360
 gggaccctgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 105
 <211> 354
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37917 VHH

<400> 105

```

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagc caccctcacc atgggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaaga acacgggtggt ttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggccccgacta ctggggccag gggaccacag tcaccgtctc ctca 354

```

<210> 106
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37355 VNH

```

<400> 106
gccgtgcagc tggtaggattc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggagg tatcttcgtc atcaatgccca tgggctggta ccgccaggct 120
ccaggaaagc agcgtgagtt ggtcgcactt attcgtggac taggcagaac aaactatgac 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaacaacac ggtgtatctg 240
cagatgaaca gcctggaacc tgaggacacg gccgtctact actgtacagt ctacgttaca 300
ctacttggtg gggttaatag ggactactgg ggcagggga cccaggctac cgtctcctca 360

```

<210> 107
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37915 VNH

```

<400> 107
gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagc gaccctcagt agcattgtca tgggctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatgggat tacatacttg 180
caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca atgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcacctg ctctca 357

```

<210> 108
 <211> 384
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37936 VNH

```

<400> 108
gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc gtaggtgcagg ctgggggggtc tctgacagtc 60
tcctgtacag cctctggatt cactttcgac cgtgctgtca tagtctgggt ccgccaggcc 120
cccgggaagc gccgtgaggg ggtctcattt attaaacctc gtgatggcac catatactac 180
attgactccc tgaagggccg attcacgatc tccagtgaca tcgccaagaa tacggtatat 240
ctgcaaatga aaagtctgga atcggaggac tgggcccgtt attactgtgc ggctcgcct 300
gaggactggt acacggattg gatcgactgg agtatatatc ggtggcagca ctggggccag 360
gggaccacag tcactgtctc ctca 384

```

<210> 109
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37953 VNH

```

<400> 109
gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggagga atggtgcagg ctgggggactc tctgagacta 60
tcctgtgtgc agtctfactta caccgtcaat agcgatgtca tgggctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatgggat tacatacttg 180

```

caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca acgccaagaa cacgggtgat 240
 ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccggtt attactgtgc agcatccaag 300
 ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggacc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 110
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37965 VNH

<400> 110
 gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
 tcctgtacag cctctgggagc aaccttgact aacgatcaca tggcatggtt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg ggcgtgaatt tgtagcagct attgactgga gtggctgtac cacaaattac 180
 gcagaccctcg tagagggccg attcaccatc tccagaaaca acgccaagaa cacgggtgat 240
 ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggac acggccggtt attactgtgc ggtcctccgc 300
 gcttggatct catatgacaa tgactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 111
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37972 VNH

<400> 111
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctgggagg caccttaagt aaaaatacctg tggcttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg agcgtgggtt tgtagcgtct attacctggg atggctgtac gacatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagtgat 240
 ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccggtt atgtctgtgc agacttaggg 300
 aatggcctg cgggcccggc ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 112
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37353 VNH

<400> 112
 caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggctggtc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctgaaaca caccttcagt agccatgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg agcgtgagtc tgttgacagt attggctgga gagataatag cacaaagctat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gacgctgtat 240
 ctgcaaatga atagcctgaa acctgaggac acggccggtt actactgtgc agcacgtcgg 300
 atcgacgag ctgactttga ttcctggggg caggggacc aggtcaccgt ctcctcg 357

<210> 113
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37948 VNH

<400> 113
 gcggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
 acctgtacag cctctgggagc cgccttcagt acctattca tggcctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg agcgtgagtt tgtagcagga attgcatgga gtgggtgtag cacggcgtat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgggtgat 240
 ctgcaaatga acagcctgaa atctgaggac acggccggtt attactgtgc cagcaggggg 300
 attgaggtcg aagagtttgg tgccctggggc caggggacc aggtcaccgt ctcgtcg 357

<210> 114
 <211> 342
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37333 VHH

<400> 114
 gatgtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggggtc tctgagactc 60
 tcctgtgtag cctctggatt gacctcagt agctacccca tgatgtgggt ccgccaggct 120
 ccagggaaagg ggctcgagtg ggtctcacgt attagcgata gtgggtgggta cacaaactat 180
 gacgactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgac acctgaggac acggccgtgt attactgtag aatcctgggg 300
 ttgcccacca cgggcsaggg gaccaggtc accgtctctc ca 342

<210> 115
 <211> 378
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37336 VHH

<400> 115
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctgggtgcagc ctgggggggtc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agcaactgga tgtattgggt ccgctcaggct 120
 ccagggaaagg ggctcgagtg ggtcgcaact attagtactg atggctcgtgg aacatactat 180
 aaagactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgccaatgag tacgctgctt 240
 ctgcaaatga acaatctgaa atctgaagat acggccgtgt attattgtgc aaaagagacc 300
 aggggtgttg tggcttacct gcggaacctg ggtgactttg gttcctgggg ccaggggacc 360
 caggtcacccg tctcctcg 378

<210> 116
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37699 VHH

<400> 116
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggaag gatcttcagt atcaatgcc a tgggctggta ccgccaggct 120
 ccagggaaagg agcgcgagtt ggtcgccgct attagtacgg ctggtagcac aaactatgga 180
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
 caaatgaaca gcttgaacc tgaggacaca gctgtttatt actgtaattt aaattttccc 300
 ccgtatgtgt actggggcca ggggaccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 117
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37331 VHH

<400> 117
 caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ctgggtgcagc ctgggggagtc tctgagactc 60
 tcctgttcag cctctggaag catcttcaaa gttttcagag tctttgccat gagctggtag 120
 ccaggggggtc ccgggaaaca gcgcgagttg gtcgcatcca ttagtagtgg cgagaccaca 180
 acctatgcag actccgtgaa gggccgattc accatcteca gagacaacgc caagaatacg 240
 gcgtatctgc aaatggacag cctgaaacct gaggacacgg ccgtctatfa ctgtaatgcy 300
 gatcacacct ttacaggaga cttctggggc caggggacc aggtcaccgt ctctca 357

<210> 118
 <211> 348
 <212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37717 VNH

<400> 118

```
gaggtgcagc tgggtggaag cgggggggga ctggtgcagg cagggcgggc actgagactg 60
tcctgtgtag ccaactgggaa ggtgitttag atctacgaca tgggctggta taggcaggca 120
ccaggaaaagc agaggggagc ggtggccgag atcaccagct ccggcaccac aactacgac 180
gatttcgtgt ctggccgggt taccatcagc agagacaacg ccaagaatac agtgtatctg 240
cagatgaaca ccctgaaggc cgaggataca gccgtgtact attgccgggc taatcacgtc 300
ttcggcggct cctactgggg gcagggaact caggtcactg tgtcatcc 348
```

<210> 119

<211> 345

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37719 VNH

<400> 119

```
caggtaaaagc tggaggagtc tgggggaggc tgggtgcaga ctgggggggc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctgcaag catcttcact aggctgccca tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgtagcc attgttccta gtggtaggat aaactatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgcgccc tgaggacaca gccgtctatt actgccgggc cgataccttc 300
cccttgccca cctggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctca 345
```

<210> 120

<211> 378

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37330 VNH

<400> 120

```
caggtgcagc tgggtgagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggact tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggagc cgcctacgct acgatggcct ggttccgcca ggctccaggg 120
aaggagcgtg agtttgtagc acatctgcgc gtgagtggtg ataccactta ctatacagac 180
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gacaacgcca agaacacggc gtatctgcaa 240
atgaacatgt tgaaacctga ggacacggcc gtttattact gtgcagcggg accgtatggc 300
attcttgcg ctgccagggc cagtaatcca ggaattatg attattgggg ccaggggacc 360
caggtcaccg tctcctca 378
```

<210> 121

<211> 369

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37334 VNH

<400> 121

```
gaggtgcagc tgggtgagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggact caccttcagt agttatatta tgggctgggt ccgccaggct 120
ccaggcagag agcgcgagtt ggtcgcggaa attagtagcg gtggatgac atcgtatgca 180
gaciccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaagac ggggtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccgtttact attgtgcagc cctgagagg 300
ggtagtatct ggtacagccg ctacgaatat aagtactggg gccaggggac ccaggtcacc 360
gtctcctca 369
```

<210> 122

<211> 360

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37730 VNH

<400> 122

```

gccgtgcagc tgggtggattc tgggggagggc ttggcgcaga ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctcaagg gatcttcact atcaatgccca tgggctggta ccgccagggt 120
ccaggggaagc agcgggagtt ggtcgcagaa gttagtagtg gtggccgcac agactatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtacctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca ggcgtctatt attgtcgagt ttctggatgg 300
catgtgtttg tcggtgaccg catagtttgg ggccagggca ccctggtcac tgtctcctca 360
    
```

<210> 123

<211> 369

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37340 VNH

<400> 123

```

gatgtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggactc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcagt agctatgccca tggcctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagc agcgtgagat tgtttcgtct atcagtagca gtggtgggat cacagactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccaaagaca gcgcgaagat gaacacggtg 240
tatctgcaaa tgaatagcct agaacctgag gacacggccg tttactactg tgcggcccgt 300
acatggtacc ttctacttcc tctccaatat gactattggg gccaggggac ccaggtcac 360
gtctcctca
    
```

<210> 124

<211> 363

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37731 VNH

<400> 124

```

caggtaaagc tggaggagtc tgggggagggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggaac catcgtcagt atcagtagca tgggctggta ccgccaggct 120
ccaggggaagc agcgcgagtt ggtcgcgact ataaccaggc gtggacgcac gaactataca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaaaaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca gccgtctatt actgtaatgc agaggtgcaa 300
ctggatatac gggcatctgc gtatgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtcyc 360
tca
    
```

<210> 125

<211> 345

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37326 VNH

<400> 125

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg cacctatgcc atgggctgggt atcgccaggc tccaggggag 120
cagcgcgact tggtcgcaac tattagtggg ggggtaaca caaagtatgc agactccgtg 180
aagggccgat tcaccatctc cagagacaac gccaaagaaca caatgtatct gcaaatgaa 240
agcctgaaac ctgaggacac ggcggtttat tactgtgccg cgggtaaatg gttcctctgt 300
gcgaatgagt actggggcca ggggaccsag gtcaccgtct cctca
    
```

<210> 126

<211> 9

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Послідовність нуклеїнової кислоти Kozak

<400> 126
gscgscacc 9

<210> 127
<211> 21
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD8альфа сигнальний пептид

<400> 127
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
20

<210> 128
<211> 63
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Послідовність 1 нуклеїнової кислоти сигнального пептиду CD8альфа

<400> 128
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgcscaccagg 60
ccc 63

<210> 129
<211> 63
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Послідовність 2 нуклеїнової кислоти сигнального пептиду CD8альфа

<400> 129
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgcscacaaga 60
ccc 63

<210> 130
<211> 45
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> CD8альфа шарнір

<400> 130
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
35 40 45

<210> 131
<211> 135
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD8альфа шарнір

<400> 131
accaccagcgc cagcgcscgcg accaccacaaca ccggcscacca ccaccgcgctc gcagccctctg 60

tccttgcgcc cagagggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtgat 135

<210> 132
<211> 24
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> CD8альфа трансмембранний

<400> 132
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 133
<211> 27
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> CD28 трансмембранний

<400> 133
Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
1 5 10 15
Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
20 25

<210> 134
<211> 72
<212> ДНК
<213> штучна послідовність

<220>
<223> CD8альфа трансмембранний

<400> 134
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggctc ttctcctgtc actgggtatc 60
accctttact gc 72

<210> 135
<211> 81
<212> ДНК
<213> штучна послідовність

<220>
<223> CD28 трансмембранний

<400> 135
ttttgggtgc tgggtgggtg tgggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60
gcctttatta ttttctgggt g 81

<210> 136
<211> 41
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>
<223> CD28 цитоплазматична aa послідовність

<400> 136
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser 30
 35 40 25

<210> 137
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD137 цитоплазматичний домен

<400> 137
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 1 5 10 15
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 20 25 30
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 35 40

<210> 138
 <211> 123
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD28 цитоплазматична на послідовність

<400> 138
 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgcccggccc 60
 gggcccacc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
 tcc 123

<210> 139
 <211> 126
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD137 цитоплазматичний домен

<400> 139
 aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaaac catttatgag accagtacaa 60
 actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
 gaactg 126

<210> 140
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> wt CD3z цитоплазматичний домен

<400> 140
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 1 5 10 15
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 20 25 30
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 35 40 45
 Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 50 55 60
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 65 70 75 80
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 85 90 95

Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 100 105 110
 Arg

<210> 141
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Q65K CD3z цитоплазматичний домен

<400> 141
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
 1 5 10 15
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 20 25 30
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 35 40 45
 Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 50 55 60
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 65 70 75 80
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 85 90 95
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 100 105 110
 Arg

<210> 142
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> wt CD3z цитоплазматичний домен

<400> 142
 agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg tttggacaa gagacgtggc 120
 cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgcc ttcacatgca ggcctgccc cctcgc 336

<210> 143
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Q65K CD3z цитоплазматичний домен

<400> 143
 agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg tttggacaa gagacgtggc 120
 cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
 tacgacgcc ttcacatgca ggcctgccc cctcgc 336

<210> 144
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 1

<400> 144
 Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 145
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 2

<400> 145
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 146
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 3

<400> 146
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 147
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 4

<400> 147
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 148
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 5

<400> 148
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Ser

<210> 149
 <211> 15

<212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 6

<400> 149
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 150
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 7

<400> 150
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 151
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 8

<400> 151
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25

<210> 152
 <211> 420
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37346 CAR

<400> 152
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
 20 25 30
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
 115 120 125
 Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
 130 135 140
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg

145 150 155 160
 Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
 165 170 175
 Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
 180 185 190
 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
 195 200 205
 Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
 210 215 220
 Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
 225 230 235 240
 Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
 245 250 255
 Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 260 265 270
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 275 280 285
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
 290 295 300
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 305 310 315 320
 Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 325 330 335
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 340 345 350
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 355 360 365
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 370 375 380
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 385 390 395 400
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 405 410 415
 Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 153
 <211> 426
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37348 CAR

<400> 153
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
 20 25 30
 Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys
 65 70 75 80
 Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 85 90 95
 Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu
 100 105 110
 Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 115 120 125
 Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
 130 135 140
 Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
 145 150 155 160
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 165 170 175
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly

180 185 190
 Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
 195 200 205
 Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
 210 215 220
 Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
 225 230 235 240
 Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
 245 250 255
 His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 260 265 270
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 275 280 285
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 290 295 300
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
 305 310 315 320
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 325 330 335
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 340 345 350
 Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
 355 360 365
 Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
 370 375 380
 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 385 390 395 400
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 405 410 415
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420 425

<210> 154
 <211> 416
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37917 CAR

<400> 154
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
 20 25 30
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
 50 55 60
 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser
 65 70 75 80
 Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 85 90 95
 Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
 100 105 110
 Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
 115 120 125
 Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 130 135 140
 Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 165 170 175
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 180 185 190
 Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
 195 200 205
 Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

```

      210                               215                               220
Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
225                               230                               235                               240
Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
                               245                               250                               255
Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
                               260                               265                               270
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
                               275                               280                               285
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
                               290                               295                               300
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
305                               310                               315                               320
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
                               325                               330                               335
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
                               340                               345                               350
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
                               355                               360                               365
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
370                               375                               380
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
385                               390                               395                               400
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                               405                               410                               415

```

<210> 155
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37355 CAR

```

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

```

```

                260                265                270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
      275      280      285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
      290      295      300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
      305      310      315      320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
      325      330      335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
      340      345      350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
      355      360      365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
      370      375      380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
      385      390      395      400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
      405      410      415
Pro Arg

```

<210> 156
 <211> 417
 <212> PRT
 <213> шгучна послїдовнїсть

<220>
 <223> BCMA 269A37915 CAR

```

<400> 156
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
  1      5      10
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
      20      25
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
      35      40      45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly
      50      55      60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
      65      70      75      80
Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg
      85      90      95
Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
      100      105      110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
      115      120      125
Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
      130      135      140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
      145      150      155      160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
      165      170      175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
      180      185      190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
      195      200      205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
      210      215      220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
      225      230      235      240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
      245      250      255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
      260      265      270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
      275      280      285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu

```


290 295 300
 Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
 305 310 315 320
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 325 330 335
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 340 345 350
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 355 360 365
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 370 375 380
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 385 390 395 400
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 405 410 415
 Arg

<210> 157
 <211> 426
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37936 CAR

<400> 157
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
 20 25 30
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Thr
 35 40 45
 Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val Ser Phe Ile
 65 70 75 80
 Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ile Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Lys Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
 115 120 125
 Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr Arg Trp
 130 135 140
 Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
 145 150 155 160
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 165 170 175
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 180 185 190
 Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
 195 200 205
 Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
 210 215 220
 Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
 225 230 235 240
 Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
 245 250 255
 His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 260 265 270
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 275 280 285
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
 290 295 300
 Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
 305 310 315 320
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn

```

          325          330          335
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
          340          345          350
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
          355          360          365
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
          370          375          380
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385          390          395
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
          405          410          415
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
          420          425

```

<210> 158
 <211> 417
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37953 CAR

```

<400> 158
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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
          20          25          30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
          35          40          45
Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly
          50          55          60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
65          70          75          80
Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg
          85          90          95
Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
          100          105          110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
          115          120          125
Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
          130          135          140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145          150          155          160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
          165          170          175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
          180          185          190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
          195          200          205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
210          215          220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225          230          235          240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
          245          250          255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
          260          265          270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
          275          280          285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
290          295          300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305          310          315          320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
          325          330          335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
          340          345          350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln

```

355 360 365
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 370 375 380
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 385 390 395 400
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 405 410 415
 Arg

<210> 159
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37965 CAR

<400> 159
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
 20 25 30
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp His Met Ala
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
 65 70 75 80
 Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Glu Met
 100 105 110
 Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Val Leu
 115 120 125
 Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 130 135 140
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
 145 150 155 160
 Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
 165 170 175
 Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
 180 185 190
 Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
 195 200 205
 Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
 210 215 220
 Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
 225 230 235 240
 Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
 245 250 255
 Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 260 265 270
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 275 280 285
 Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 290 295 300
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
 305 310 315 320
 Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
 325 330 335
 Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
 340 345 350
 Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
 355 360 365
 Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
 370 375 380
 Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser

<210> 161
 <211> 417
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37353 CAR

<400> 161
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
 20 25 30
 Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile
 65 70 75 80
 Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
 115 120 125
 Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
 130 135 140
 Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
 145 150 155 160
 Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
 165 170 175
 Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
 180 185 190
 Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 195 200 205
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 210 215 220
 Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 225 230 235 240
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 245 250 255
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
 260 265 270
 Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
 275 280 285
 Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
 290 295 300
 Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
 305 310 315 320
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 325 330 335
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 340 345 350
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 355 360 365
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 370 375 380
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 385 390 395 400
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 405 410 415
 Arg

<210> 162

<211> 417
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA_269A37948_CAR

<400> 162
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
 20 25 30
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile
 65 70 75 80
 Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg
 115 120 125
 Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
 130 135 140
 Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
 145 150 155 160
 Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
 165 170 175
 Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
 180 185 190
 Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 195 200 205
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 210 215 220
 Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 225 230 235 240
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 245 250 255
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
 260 265 270
 Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
 275 280 285
 Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
 290 295 300
 Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
 305 310 315 320
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 325 330 335
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 340 345 350
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 355 360 365
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 370 375 380
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 385 390 395 400
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 405 410 415
 Arg

<210> 163
 <211> 411
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD38 38A37333 CAR

<400> 163
 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 Val Asn Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
 35 40 45
 Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr
 65 70 75 80
 Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
 85 90 95
 Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu
 100 105 110
 Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ile Leu Gly Leu Pro Thr Thr Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser
 130 135 140
 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
 145 150 155 160
 Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
 165 170 175
 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val
 180 185 190
 Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
 195 200 205
 Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
 210 215 220
 His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
 225 230 235 240
 Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
 245 250 255
 Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
 260 265 270
 Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
 275 280 285
 Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
 290 295 300
 Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
 305 310 315 320
 Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
 325 330 335
 Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
 340 345 350
 Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
 355 360 365
 Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
 370 375 380
 His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
 385 390 395 400
 Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 405 410

<210> 164
 <211> 423
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD38 38A37336 CAR

<400> 164
 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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 35 40 45
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly
 65 70 75 80
 Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp
 85 90 95
 Asn Ala Met Ser Thr Leu Leu Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Ser Glu
 100 105 110
 Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala
 115 120 125
 Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 130 135 140
 Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val
 195 200 205
 Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 210 215 220
 Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr
 225 230 235 240
 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
 245 250 255
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly
 260 265 270
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 275 280 285
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 290 295 300
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 305 310 315 320
 Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 325 330 335
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 340 345 350
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 355 360 365
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 370 375 380
 Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 385 390 395 400
 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 405 410 415
 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 165
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37699 CAR

<400> 165
 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 Val Asn Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 35 40 45

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

<210> 166
 <211> 416
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37331 CAR

<400> 166
 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 Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser
 35 40 45
 Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe Arg Val Phe Ala Met Ser Trp Tyr Arg
 50 55 60
 Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Ile Ser Ser Gly
 65 70 75 80
 Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 85 90 95

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys
 100 105 110
 Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Asp His Thr Phe Thr
 115 120 125
 Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg
 130 135 140
 Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 165 170 175
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 180 185 190
 Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
 195 200 205
 Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys
 210 215 220
 Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
 225 230 235 240
 Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
 245 250 255
 Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
 260 265 270
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 275 280 285
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 290 295 300
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
 305 310 315 320
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 325 330 335
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 340 345 350
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 355 360 365
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 370 375 380
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 385 390 395 400
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 405 410 415

<210> 167
 <211> 413
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37717 CAR

<400> 167
 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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
 35 40 45
 Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
 65 70 75 80
 His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 85 90 95
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His
 130 135 140

Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
 145 Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
 Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe
 165 180 185 190
 Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu
 195 200 205
 Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg
 210 215 220
 Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro
 225 230 235 240
 Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala
 245 250 255
 Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 260 265 270
 Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
 275 280 285
 Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
 290 295 300
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
 305 310 315 320
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 325 330 335
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 340 345 350
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 355 360 365
 Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
 370 375 380
 Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
 385 390 395 400
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 405 410

<210> 168
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37719 CAR

<400> 168
 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 Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 35 40 45
 Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Val Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile
 65 70 75 80
 Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 85 90 95
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
 130 135 140
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 145 150 155 160
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 165 170 175 180
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp
 180 185 190

Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
 195 200
 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
 210 220
 Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
 225 230 235 240
 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
 245 255
 Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
 260 265 270
 Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
 275 280 285
 Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
 290 295 300
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 305 310 315 320
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 325 330 335
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 340 345 350
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 355 360 365
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys
 370 375 380
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 385 390 395 400
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Arg
 405 410

<210> 169
 <211> 423
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37330 CAR

<400> 169
 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 Val Asn Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 35 40 45
 Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Phe Val Ala His Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Met Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Cys Ala Ala Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala
 115 120 125
 Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 130 135 140
 Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro
 145 150 155 160
 Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
 165 170 175
 Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
 180 185 190
 Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val
 195 200 205
 Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 210 215 220
 Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr
 225 230 235 240

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
 245 250 255
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly
 260 265 270
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 275 280 285
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 290 295 300
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 305 310 315
 Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 325 330 335
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 340 345 350
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 355 360 365
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
 370 375 380
 Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
 385 390 395 400
 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
 405 410 415
 Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 170
 <211> 420
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37334 CAR

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

Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 275 280 285
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly
 290 295 300
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 305 310 315 320
 Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 325 330 335
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 340 345 350
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 355 360 365
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 370 375 380
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 385 390 395 400
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 405 410 415
 Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 171
 <211> 417
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37730 CAR

<400> 171
 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 Val Asn Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Ala Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 35 40 45
 Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr
 65 70 75 80
 Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 85 90 95
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
 100 105 110
 Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Arg Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly
 115 120 125
 Asp Arg Ile Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
 130 135 140
 Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
 145 150 155 160
 Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
 165 170 175
 Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
 180 185 190
 Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 195 200 205
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 210 215 220
 Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 225 230 235 240
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 245 250 255
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
 260 265 270
 Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
 275 280 285
 Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
 290 295 300

Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
 305 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 Arg

<210> 172
 <211> 420
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37340 CAR

<400> 172
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1 His Ala Ala Arg Pro Val Asn Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro
 Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile
 Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp
 Ser Ala Lys Met Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg
 Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
 Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
 Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
 Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
 Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
 Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
 Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
 Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 305 310 315 320
 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 340 345 350
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 355 360 365
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 370 375 380
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 385 390 395 400
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 405 410 415
 Leu Pro Pro Arg
 420

<210> 173
 <211> 418
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37731 CAR

<400> 173
 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 Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
 50 55 60
 Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr
 65 70 75 80
 Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 85 90 95
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
 100 105 110
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala
 115 120 125
 Ser Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ala Ser
 130 135 140
 Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
 145 150 155 160
 Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
 165 170 175
 Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
 180 185 190
 Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
 195 200 205
 Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
 210 215 220
 Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
 225 230 235 240
 Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
 245 250 255
 Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 260 265 270
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 275 280 285
 Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 290 295 300
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
 305 310 315 320
 Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
 325 330 335
 Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
 340 345 350
 Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
 355 360 365

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
 370 375 380
 Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
 385 390 400
 Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
 405 410 415
 Pro Arg

<210> 174
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37326 CAR

<400> 174
 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 Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 35 40 45
 Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln
 50 55 60
 Arg Asp Leu Val Ala Thr Ile Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Lys Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
 130 135 140
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 145 150 155 160
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp
 180 185 190
 Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
 195 200 205
 Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
 210 215 220
 Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
 225 230 235 240
 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
 245 250 255
 Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
 260 265 270
 Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
 275 280 285
 Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
 290 295 300
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 305 310 315 320
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 325 330 335
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 340 345 350
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 355 360 365
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 370 375 380
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 385 390 395 400

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 405 410

<210> 175
 <211> 1263
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37346 CAR

<400> 175
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cggccgaccg 60
 ccggtaaac gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
 gtgcagcctg ggggttctct gaggctctcc tgtgaagcct ctggattcac ttggattat 180
 tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgagggggg catatgtatt 240
 agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
 agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
 gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggg acctacgaga ttatgagttc 420
 cgggggaggg ggaccaggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgcgcgca 480
 ccaccaaac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
 cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgectg tgatttttgg 600
 ggtctgttgg tggttgggg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtgcccttt 660
 attattttct gggtaggag taagaggagc aggctcctgc acagtgacta catgaacatg 720
 actccccgcc gccccgggccc caccgcgaag cattaaccagc cctatgcccc accacgcgac 780
 ttgcagcct atcgtctcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840
 tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccc attcccagaa 900
 gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcggccgcg 960
 tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
 gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
 aaccctcagg aaggcctgta caatgaacty cagaaaagata agatggcggg ggcctacagt 1140
 gagattggga tgaaggcga gcgcggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
 ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
 tga 1263

<210> 176
 <211> 1281
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269А37348 CAR

<400> 176
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cggccgaccg 60
 ccggtaaac gcacgcgtcg catgcatcag gtaaaagctgg aggagtctgg gggargattg 120
 gtgcagccaa ggggtctctt gagactctcc tgtgcaggct ctggacgcac ttfcagtacc 180
 tatggatagg cctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagttcgt agcgtctaaa 240
 gcafcgatga attacagcgg tagaacatac tatgcagact cctggaaggg ccgattcacc 300
 atcgcagag acaacgccaa gaacatggtg tttctgcaaa tgaacaacct gaagcctgag 360
 gacacggccg tttattactg tgcagcgggc actggatgct caacataggg gtgttttgac 420
 gccagataa tagactactg gggcaaaggg accctgggtc ccgtctctct aactagtacc 480
 acgacgcag cgcgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gccccctgtec 540
 ctgcgcccag aggcgtgccc gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 600
 ttgcctgtg atttttgggt gctgggtggt gttgggtggag tcctggcctt ctatagcttg 660
 ctagtaacag tggcctttat tttttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
 agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc cccgggcccа cccgcaagca ttaccagccc 780
 tatgccccac caccgcactt cgcagcctat cgtccaaaac ggggcagaaa gaaactccty 840
 tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
 agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg 960
 agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020
 ggacgaagag aggagfacga tgttttggac aagagacgtg gccgggacc tgagatgggg 1080
 gaaaagccga gaaggaagaa cctcaggaa gccctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140
 atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcagc gccggagggg caaggggcac 1200
 gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1260
 caggccctgc cccctcgtg a 1281

<210> 177

<211> 1251
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37917 CAR

<400> 177
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgctc catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
 gtgcaggctg yggggctctt gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttcaccatg 180
 ggggtggctcc gtcaggctcc agggaaaggag cgtgagtttg tagcagctat tagtttgagt 240
 cctactttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300
 gccaaagaaca cgggtggtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360
 tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg yggccagggg 420
 acccaggctca ccgtctcttc aactagtacc acgacgcccag cgcgcgacc accaacaccg 480
 gcgcccacca tcgctgcgca gccccgtcc ctgcccagcagg aggcgtgccc gccagcggcg 540
 gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttcgctctgtg atttttgggt gctggtgggtg 600
 gtttggtygag tcctggcttg ctatagcttg ctagtaacag tggcctttat tttttctgg 660
 gtgaggagta acaggagcag gctccctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc 720
 cccgggcccc cccgcaagca ttaccagccc tatgcccac caccgcactt cgcagcctat 780
 cgtccaaaac ggggcagaaa gaaactcctg tataatattca aacaaccatt tatgagacca 840
 gtacaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 900
 gtagtgtaac ttagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta caagcaaggc 960
 cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgtttggac 1020
 aagagacgtg gccgggacc ctgagatgggg ggaagcccga gaaggagaac cctcaggaa 1080
 ggctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140
 aaagggagc gccggagggg caaggggcac gatggcctt accagggtct cagtacagcc 1200
 accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcctg a 1251

<210> 178
 <211> 1257
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37355 CAR

<400> 178
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgctc catgcatgcc gtgcagctgg tggattctgg gggaggcttg 120
 gtgcagcctg gggggctctt gagactctcc tgtgtagcct ctggaggat cttcgtcacc 180
 aatgccatgg gctggtaacc ccaggctcca ggaagcagc gcgagttggt cgcacttatt 240
 cgtggactag gcagaacaaa ctatgacgac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga 300
 gacaacgcca acaacacggg gtatctgcag atgaacagcc tggaaacctga ggacacggcc 360
 gtctactact gtacagtcta cgttacacta cttgggtggg ttaatagggg ctactggggc 420
 caggggaccc aggtcaccgt ctctcaact agtaccacga cgcagcgc ccgaccacca 480
 acaccggcgc ccaccatcgc gtcgacgccc ctgtccctgc gccagaggc gtgccggcca 540
 gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
 gtgggtggtg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
 ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
 cgccgcccgg gcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
 gcctatcgct ccaaacgggg cagaagaaga ctctgtata tattcaaaca accattfatg 840
 agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttc agaagaagaa 900
 gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
 cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
 ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaacctt 1080
 caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
 gggatgaaag gcgagcgcgg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggctcagt 1200
 acagccacca aggacaccta cgacgcctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctga 1257

<210> 179
 <211> 1254
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37915 CAR

<400> 179
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggtaacc gcacgcgctc catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg ggggctctct gagactctcc ttgacagcct ctggacggac ctfcagttagc 180
attgtcatgg gctggttccg ccaggctcca ggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300
agagacaatg ccaagaacac ggtgatctct caaatgaaca gcctgaaact tgaggatagc 360
gcccgtttatt actgtgcagc atccaagggt agatactcgg aatfatgagta ctggggccag 420
gggaccaggg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgcgcgc accaccaaca 480
ccggcgccca ccacgcgctc gcagcccctg tccttgccgc cagaggcctg ccggccagcg 540
gccccggggc cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtccctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccaccgcaa gcattaccag ccttatgcc caccacgcga ctccgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgcgggag gggcaagggg cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210> 180
<211> 1281
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> BCMA 269A37936 CAR

<400> 180
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggtaacc gcacgcgctc catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcctg 120
gtgcaggctg ggggctctct gagactctcc ttgacagcct ctggattcac ttccgaccgt 180
gctgtcatag tctggttccg ccaggcccc ggaaggggcc gtgaggggggt ctcatttatt 240
aaacctagtg atggaccat atactacatt gactccccga agggccgatt cacgatctcc 300
agtgacatcg ccaagaatac ggtatatctg caaatgaaaa gtctggaatc ggaggactcg 360
gcccgtttatt actgtgcggc ctgcctgag gactgggtaca cggattggat cgactggagt 420
atatatcggt ggcagcactg gggccagggg acccagggtca ctgtctctc aactagtacc 480
acgacgcag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tccgctcgca gccctgtcc 540
ctgcgccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 600
ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg gtgggtggag tcctggcttg ctatagcttg 660
ctagtaacag tggcctttat tttttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
agtgactaca tgaacatgac tccccgcgc cccgggcca cccgcaagca ttaccagccc 780
tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat cgtccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840
tatatatcca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
agctgcccag ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtga gttcagcag 960
agcgcagacg cccccgcta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaacta 1020
ggacgaagag aggagtacga tgtttggac aagagacgtg gccgggacc tgagatggg 1080
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggctgtaca atgaaactgca gaaagataag 1140
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcagc gccggagggg caaggggcac 1200
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1260
caggccctgc cccctcgtg a 1281

<210> 181
<211> 1254
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> BCMA 269A37953 CAR

<400> 181
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggtaacc gcacgcgctc catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggaatg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactatcc ttgtgtagt ctacttacac cgtcaatagc 180
gatgtcatgg gctggttccg ccaggctcca ggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300

```

agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatagc 360
gccggtttatf actgtgcagc atccaagggg agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420
gggaccaggg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgct gcagccccctg tccttgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgect gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtgggtggtg gagtctctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccaccgcgaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcca cctcgcagcc 780
tatcgtcca aacggggcag aaagaacctc ctgtatata tcaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gfacaagcag 960
ggccagaaac agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgtgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaagatg aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgcggag gggcaagggg cacgatggcc ttaccaggg tctcagtaca 1200
gcccaccagg acacctacga cgccttccac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

```

<210> 182
 <211> 1257
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37965 CAR

```

<400> 182
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgctc catgcatcgc gtcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactctcc tgtacagcct ctgggtgcaac cttgactaac 180
gatcacatgg catggttccg ccaggctcca gggaaagggc gtgaatttgt agcagctatt 240
gactggagtg gtcgtaccac aaattacgca gaccccgtag agggccgatt caccatctcc 300
agaaacaacg ccaagaacac ggtgtatctg gaaatgaaca gcctgaaact tgaggacacg 360
gccggtttatf actgtgcggt cctcgcgect tggatctcat atgacaatga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcacctg ctctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagagggc gtgcccggca 540
gcggcggggg ggcgagtgca cacgaggggg ctggacttgc cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtgggtggttg gtggagtcc tggcttctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga yggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccaccgg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgtc ccaaacgggg cagaagaaga ctctgtata tattcaaaac accatttatg 840
agagacagac aaactactca agaggaagat ggcctgtagc gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gactgggcgg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaacctt 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtggattt 1140
gggatgaaag gcgagcgcgg gggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggggtctcag 1200
acagccacca aggacacctt cgacgccctt cacatgcagg ccctgcccc ctgctga 1257

```

<210> 183
 <211> 1257
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMA 269A37972 CAR

```

<400> 183
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgctc catgcatcag gtcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg ggggctctct gagactctcc tgtgcagcct ctggaggcac cttaaagtaa 180
aataccgtgg cttggttccg ccaggctcca gggaaaggagc gtgggtttgt agcgtctatt 240
acctgggatg gtcgtacgac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaacac agtgtatctg caaatgaaca gcctgaaacc tgaggatagc 360
gccggtttatg tctgtgcaga cttagggaaa tggcctgccc gcccgggcga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcacctg ctctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagagggc gtgcccggca 540
gcggcggggg ggcgagtgca cacgaggggg ctggacttgc cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtgggtggttg gtggagtcc tggcttctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga yggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720

```

cgccgccccg	ggcccccccc	caagcattac	cagccctatg	ccccaccacg	cgacttcgca	780
gcctatcgcct	ccaaacgggg	cagaaagaaa	ctcctgtata	tattcaaaca	accatttatg	840
agaccagtagc	aaactactca	agaggaagat	ggctgtagct	gccgatttcc	agaagaagaa	900
gaaggaggatg	gtgaactgag	agtgaagttc	agcaggagcg	cagacgcccc	cgcgtaacaag	960
cagggccaga	accagctcta	taacgagctc	aatctaggac	gaagagagga	gtacgatggt	1020
ttggacaaga	gacgtggccc	ggaccctgag	atggggggaa	agccgagaag	gaagaacctt	1080
caggaaggcc	tgtacaatga	actgcagaaa	gataagatgg	cggaggccta	cagttagatt	1140
gggatgaaag	gcgagcgccc	gaggggcaag	gggcaagatg	gcctttacca	gggtctcagt	1200
acagccacca	aggacaccta	cgacgcctt	cacatgcagg	ccctgcccc	tcgctga	1257

<210> 184
 <211> 1254
 <212> ДНК
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37353 CAR

<400> 184	atggccttac	cagtgaccgc	cttgcctcctg	ccgctggcct	tgtctctcca	cgccgccagg	60
	ccggttaacc	gcacgcgtcg	catgcatcag	gtaaagctgg	aggagtctgg	gggaggcttg	120
	gtgcaggctg	ggcggctctc	gagactctcc	tgtgcagcct	ctgaacacac	cttcagtagc	180
	catgtcatgg	gctggttccc	ccaggctcca	gggaaggagc	gtgagtctgt	tgcaattatt	240
	ggctggagag	atattagcac	aagctatgca	gactccgtga	agggccgatt	caccatctcc	300
	agagacaacg	ccaagaagac	gctgtatctg	caaatgaata	gcttgaacc	tgaggacacg	360
	gccgtttact	actgtgcagc	acgtcggatc	gacgcagctg	actttgatfc	ctggggccag	420
	gggaccagc	tcaccgtctc	ctcgcactagt	accacgacgc	cagcgcccg	accaccaaca	480
	ccggcgcccc	ccatcgcgtc	gcagcccctg	tccttgcgcc	cagaggcgtg	ccggccagcg	540
	gcggggggcg	cagtgcacac	gagggggctg	gacttcgcct	gtgatttttg	gggtctgggtg	600
	gtggttgggtg	gagtcctggc	ttgctatagc	ttgctagtaa	cagtggcctt	tattattttc	660
	tgggtgagga	gtaagaggag	caggctcctg	cacagtgact	acatgaacat	gactccccgc	720
	cgccccgggc	ccaccgcgca	gcattaccag	ccctatgccc	caccacgcga	cttcgcagcc	780
	tatcgtctcca	aacggggcag	aaagaaactc	ctgtatatat	tcaaacaacc	atttatgaga	840
	ccagtacaac	ctactcaaga	ggaagatggc	tgtagctgcc	gatttccaga	agaagaagaa	900
	ggaggatgtg	aactgagagt	gaagttcagc	aggagcgcag	acgccccgc	gtacaagcag	960
	cgccagaaac	agctctataa	cgagctcaat	ctaggacgaa	gagaggagta	cgatgttttg	1020
	gacaagagac	gtggccggga	ccctgagatg	gggggaaagc	cgagaaggaa	gaaccctcag	1080
	gaaggcctgt	acaatgaact	gcagaaagat	aagatggcgg	aggcctacag	tgagattggg	1140
	atgaaaggcg	agcgcgggag	gggcaagggg	cacgatggcc	tttaccaggg	tctcagtaca	1200
	gccaccaagg	acacctacga	cgcccttcac	atgcaggccc	tgccccctcg	ctga	1254

<210> 185
 <211> 1254
 <212> ДНК
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМА 269A37948 CAR

<400> 185	atggccttac	cagtgaccgc	cttgcctcctg	ccgctggcct	tgtctctcca	cgccgccagg	60
	ccggttaacc	gcacgcgtcg	catgcatgag	gtgcagctgg	tggagtctgg	gggaggattg	120
	gtgcaggctg	gggactctct	gagactcacc	tgtacagcct	ctggacgcgc	cttcagtagc	180
	tatttcattg	cctggttccc	ccaggctcca	gggaaggagc	gtgagtttgt	agcaggaatt	240
	gcattggagtg	gtggtagcac	ggcgtatgca	gactccgtga	agggccgatt	caccatctcc	300
	agagacaacg	ccaagaacac	ggtgtatctg	caaatgaaca	gcttgaacc	tgaggacacg	360
	gccgtttatt	actgtgccag	cagggggatt	gaggtcgaag	agttgggtgc	ctggggccag	420
	gggaccagc	tcaccgtctc	gtcgcactagt	accacgacgc	cagcgcccg	accaccaaca	480
	ccggcgcccc	ccatcgcgtc	gcagcccctg	tccttgcgcc	cagaggcgtg	ccggccagcg	540
	gcggggggcg	cagtgcacac	gagggggctg	gacttcgcct	gtgatttttg	gggtctgggtg	600
	gtggttgggtg	gagtcctggc	ttgctatagc	ttgctagtaa	cagtggcctt	tattattttc	660
	tgggtgagga	gtaagaggag	caggctcctg	cacagtgact	acatgaacat	gactccccgc	720
	cgccccgggc	ccaccgcgca	gcattaccag	ccctatgccc	caccacgcga	cttcgcagcc	780
	tatcgtctcca	aacggggcag	aaagaaactc	ctgtatatat	tcaaacaacc	atttatgaga	840
	ccagtacaac	ctactcaaga	ggaagatggc	tgtagctgcc	gatttccaga	agaagaagaa	900
	ggaggatgtg	aactgagagt	gaagttcagc	aggagcgcag	acgccccgc	gtacaagcag	960
	ggccagaaac	agctctataa	cgagctcaat	ctaggacgaa	gagaggagta	cgatgttttg	1020
	gacaagagac	gtggccggga	ccctgagatg	gggggaaagc	cgagaaggaa	gaaccctcag	1080
	gaaggcctgt	acaatgaact	gcagaaagat	aagatggcgg	aggcctacag	tgagattggg	1140

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210> 186
<211> 1236
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD38 38A37333 CAR

<400> 186
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg atgtgcagct ggtggagtct gggggaggct tgggtcagcc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgtagc ctctggattg accttcagta gctaccccat gatgtgggtc 180
cgccaggctc caggaagggt gctcaggtgg gtctcagta ttagcgatag tgggtggtac 240
acaaactatg agcactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa cgccaagaac 300
acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaca cctgaggaca cggccgtgta ttactgtaga 360
atcctggggg tgccccaccac gggccagggg acccaggtea ccgtctcctc aacgctcgc 420
atgcatacta gtaccacgac gccagcggcg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgcccttcgc ccagagggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatttt tgggtgctgg tgggtggtgg tggagtctctg 600
gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc ttattatttt tctgggtgag gagtaagagg 660
agcaggtccc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gccaccctcg 720
aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc caaacggggc 780
agaaagaaac tctctgtatat attcaaacaa ccattttatga gaccagtaca aactactcaa 840
gaggaagatg gctgtagctg ccgattttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 900
gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccc cggtacaagc agggccagaa ccagctctat 960
gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 1080
ctgcagaaag ataagatggc ggaggccctac agtgagattg ggatgaaagg ctagcggccg 1140
agggggcaag ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1200
gacgccttc acatgcaggc cctgccccct cgctga 1236

<210> 187
<211> 1272
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> CD38 38A37336 CAR

<400> 187
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggcc tgggtcagcc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagta gcaactggat gtattgggtc 180
cgctcaggctc caggggaagg gctcaggtgg gtgcacaacta ttagtactga tggctggtga 240
acatactata aagactctgt gaagggccga ttcaccgtct ccagagacaa cgccatgagt 300
acgctgcttc tgcaaatgaa caacttgaaa tctgaagata cggccgtgta ttattgtgca 360
aaagagccga ggggtgtgat ggcttacctg cggaaacctgg gtgactttgg ttctggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctctctgacg cgtcgcagtc atactagtag cacgacgcca 480
gcgcgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agccccgtc cctgcgcccc 540
gagggcgtgccc ggcagcggc gggggggcga gtgcacacga gggggctgga cttgcctgt 600
gatttttggg tgctggtggt ggttgggtgga gtctggctt gctatagctt gctagtaaca 660
gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt aagaggagca ggtcctgca cagtactac 720
atgaacatga ctccccgccg ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc 780
ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840
aaacaaccat ttatgagacc agfacaacct actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900
tttcagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 960
gcccccgctt acaagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1020
gaggagtacg atgttttggg caagagacgt ggcggggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaaactgc agaaagataa gatggcggag 1140
gcctacagtg agattgggat gaaagggcag cgcggagggg gcaaggggca ctagggcctt 1200
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1260
ccccctcgt ga 1272

<210> 188
<211> 1239
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37669 CAR

<400> 188

```

atggccttac cagtgaccgc cttgtcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggct tgggtcaggc tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctcctggaagg atcttcagta tcaatgccat gggctygtac 180
cgccaggctc cagggaaagca gcgcgagttg gtcgccgcta ttagtacggc tggtagcaca 240
aactatggag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ctgtttatfa ctgtaattta 360
aatttfcccc cgtatgtgta ctggggccag gggaccaggt tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcccaccac caacaccggc gccaccatc 480
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgccctgtgat ttttgggtgc tgggtgggtg tgggtggagtc 600
ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg gcctttatta tttctgggt gaggagtaag 660
agagcagggc tccctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgcgcgcc cgggccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagccatcgc ctccaaacgg 780
ggcagaaaaga aactcctgta tataattcaa caaccattta tgagaccagt acaaaactact 840
caagaggaag atggctgtag ctgcccattt ccagaagaag aagaaggagg argtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttgacaa gagacgtggc 1020
cgggacctga agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1080
gaaatgcaga aagataaagt ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggacgca tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgcc ttcacatgca ggcctgccc cctcgtgta

```

<210> 189

<211> 1251

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37331 CAR

<400> 189

```

atggccttac cagtgaccgc cttgtcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggct tgggtcagcc tggggagctct 120
ctgagactct cctgttcagc ctcctggaagc atcttcaaaag ttttcagagt ctttgccatg 180
agctygtacc gccagggtcc cgggaaacag cgcgagttgg tcgcatccat tagtagtggc 240
gagaccacaa cctatgcaga ctcctgtaag ggccgattca ccactctccag agacaacgcc 300
aagaatcagg cgtatctgca aatggacagc ctgaaacctg aggacacggc cgtctattac 360
tgtaatgcgc atcacacctt tacaggagac tcttggggcc aggggacca ggtcaccgct 420
tcctcaacgc gtcgcatgca tactagtacc acgacgccag cgcgcgacc accaacaccg 480
gcgccacca tcgctgcgca gccctgtcc ctgcgccag aggcgtgccc gccagcggcg 540
ggggggcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atttttgggt gctgggtggg 600
gttygtggag tccctggctg ctatagcttg ctagtacag tggccttiat tattttctgg 660
gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc 720
cccgggcccc cccgcaagca ttaccagccc tatgccccac cagcgcactt cgcagcctat 780
cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg tataatattca aacaaccatt tatgagacca 840
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgcccgt ttccagaaga agaagaagga 900
ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgcagacy ccccgcgta caagcagggc 960
cagaaccagc tctatacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1020
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaagccga gaaggaaaga ccctcaggaa 1080
ggcctgtaca atgaaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140
aaagggcagc gccggagggg caaggggcac gatggcctt accagggtct cagtacagcc 1200
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcgtg a 1251

```

<210> 190

<211> 1242

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD38 38A37717 CAR

<400> 190

```

atggccttac cagtgaccgc cttgtcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

```



```

ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc gggggggggc tgggtcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgttttagc tctacgacat gggctggtat 180
aggcaggcac caggaaagca gaggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgcccggct 360
aatcaagctc tcggcggctc ctactggggg cagggaaactc aggtcactgt gtcateccag 420
cgtecgatgc ataactagtac cacgacgcca gcgccgagc caccaacacc ggccgccacc 480
atcgcgctgc agccccgtc cctgcgccc gaggcgtgccc ggccagcggc gggggggcga 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatTTTTggg tgcctgggtgt ggttgggtga 600
gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca gtggccctta ttattttctg ggtgaggagt 660
aagaggagca ggtcctgca cagtgactac atgaacatga ctccccgccc ccccgggccc 720
acccgcaagc attaccagcc ctatgcccc ccaecgcact tcgcagccta tcgctccaaa 780
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaacccat ttatgagacc agtaccaaact 840
actcaagagg aagatggctg tagctgcccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 900
ctgagagtga agttcagcag gacgcagac gcccccgctg acaagcaggg ccagaaccag 960
ctctataacg agctcaatct aggaagaaga gaggagtacg atgttttggg caagagacgt 1020
ggccgggagc ctgagatggg gggaaagcgg agaaggaaga accctcagga accctcagta 1080
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagt agattgggat gaaagggcag 1140
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1200
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg cccctcctct ga 1242

```

<210> 191
 <211> 1239
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37719 CAR

```

<400> 191
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cggccgaccg 60
ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggct cgggtcagac tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctgcaagc atcttacta ggctgcccac gggctggtag 180
cgcagagctc cagggaagca gcgcgagttg gtcgtaggca ttgttccctag tggtaggata 240
aactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacagc 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgcgccct gaggacacag ccgtctatta ctgccgccc 360
gataccttcc ccttgcccac ctggggccag gggaccaccg tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcctgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 480
gcgtgcagc cctgtccct gcgccagag gcgtgcccgc cagcggcggg gggcgcagt 540
cacacgaggg ggtggactt cgctgtgat tttgggtgc tgggtgggtgt tgggtggagt 600
ctggcttgct atagcttct agtaacagt gcctttatta tttctgggtt gaggagtaag 660
aggagcagtc tctgcacag tgactactg aacatgactc cccgccgcc cgggcccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgcccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaa caaccattta tgagaccagt acaactact 840
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagcgc ccagcgtaca agcagggcca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgat ttttggacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca agggcacga tggcctttac cagggctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgccc ttcacatgca ggcctgccc cctcgtga 1239

```

<210> 192
 <211> 1272
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37330 CAR

```

<400> 192
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cggccgaccg 60
ccggttaacc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tgggtcaggc tggggactct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc gcctacgcta cgatggcctg gttccgccag 180
gctccagggg aggagcgtga gttttagca catctgcgcg tgagtgggtg taccacttac 240
tatacagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacggcg 300
tatctgcaaa tgaacatggt gaaacctgag gacacggccc ttattactgt tttactgaga 360
ccgtatggca ttcttgcgcg tgccagggtc agtaatccag gaaattatga ttattggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctctcaacg cgtcgcagc atactagtac cacgacgcca 480

```

```

gcgccgcgac caccacacc gccgcccacc atcgcgctgc agccccctgt cctgcgccca 540
gaggcgtgcc gccagcggc ggggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt 600
gatttttggg tgctggtggt ggttgytggg gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca 660
gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720
atgaacatga ctcccggccg cctcgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccca 780
ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840
aaacaaccat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900
tttcagaaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 960
gccccgcgt acaagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1020
gaggagtacg atgttttggg caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1140
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgcgggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1200
taccagggtc tcagtacagc caccaaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1260
ccccctcgtc ga

```

<210> 193
 <211> 1263
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37334 CAR

```

<400> 193
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tgggtcaggc tgggggctct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggactc accttcagta gttatattat gggctgggtc 180
cgccaggctc caggcgagga gcccgagttg gtcgcggaat ttagtagcgg tggatgaca 240
tcgtatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaagacg 300
gggtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacgg ccgtttacta ttgtgcagcc 360
cctgagaggg gtagtatctg gtacagccgc tacgaatata agtactgggg ccaggggacc 420
caggtcaccc tctctcaac gcgtcgcctg catactagta ccacgacgc agcgcgcgca 480
ccaccaacac cggcgcacc acatcgcctg cagccccctg ccctgcgcc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cggggggcgc agtgacacg agggggctgg acttcgcctg tgatttttgg 600
gtgctgggtg tggttgggtg agtcttggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660
atattttct gggtagggag taagaggagc aggcctctgc acagtgacta actgaacatg 720
actcccgcgc gcccgggcc cacccgcaag cattaccagc cctatgcctc accacgcgac 780
ttgcagcctc atcgtccaa accgggcaga aagaaactcc tgatatatt caaacaacca 840
ttatgagac cagtacaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccc atttccagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgaga gccccccgca 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcggg ggcctacagt 1140
gagattggga tgaaggcgca gcccgagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
tga

```

<210> 194
 <211> 1254
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37730 CAR

```

<400> 194
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg ccgtgcagct ggtggattct gggggaggct tggcgcagac tggggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctcaaggg atcttacta tcaatgccat gggctgggtc 180
cgccaggttc caggaagca gccggagtgg gtcgcagaag ttagtagtgg tggccgaca 240
gactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtacctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag gcgtctatta ttgtcagatt 360
tctggatggc atgtgtttgt cggtagccgc atagtttggg gccagggcac ccttggctact 420
gtctcctcaa cgcgtcgcct gcatactagt accacgacgc cagcgcgcg agaccaca 480
ccggcgccca ccacgcgct gcagccccg tccttgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttgcct gtgattttg ggtgctggtg 600
gtggttgggt gagtcttggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattatttct 660
tgggtgagga tgaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccaccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgca cttcgcagcc 780

```

tatcgctcca	aacggggcag	aaagaaactc	ctgtatata	tcaaacaacc	atztatgaga	840
ccagtaaaaa	ctactcaaga	ggaagatggc	tgtagctgcc	gatttccaga	agaagaagaa	900
ggaggatgtg	aactgagagt	gaagtccagc	aggagcgag	acgccccgc	gtacaagcag	960
ggccagaacc	agctctataa	cgagctcaat	ctaggacgaa	gagaggagta	cgatgtttg	1020
gacaagagac	gtggccggga	ccctgagatg	gggggaaagc	cgagaaggaa	gaaccctcag	1080
gaaggcctgt	acaatgaact	gcagaaagat	aagatggcgg	aggcctacag	tgagattggg	1140
atgaaaggcg	agcgccggag	gggcaagggg	cacgatggcc	tttaccaggg	tctcagtaca	1200
gccaccaagg	acacctacga	cgcccttcac	atgcaggccc	tgccccctcg	ctga	1254

<210> 195
 <211> 1263
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37340 CAR

<400> 195	atggccttac	cagtgaccgc	cttgctcctg	ccgctggcct	tgctgctcca	cgccgccagg	60
	ccgggttaacg	atgtgcagct	gggtggagtct	gggggaggat	tggtgcaggc	tggggactct	120
	ctgagactct	cctgtgcagc	ctctggacgc	accttcagta	gctatgccat	ggcctgggtc	180
	cgccaggctc	cagggaaagga	gcgtgagatt	gtttcgtcta	tcagtaccag	tggtgggtatc	240
	acagactatg	cagactccgt	gaagggccga	ttaccatct	ccaaagacag	cgcaagatg	300
	aacacgggtg	atctgcaaat	gaatagccta	gaacctgagg	acacggccgt	ttactactgt	360
	ggggcccgta	catggtacct	tcgtacttct	ctccaatatg	actattgggg	ccaggggacc	420
	caggtcaccg	tctcctcaac	gcgtgcgatg	catactagta	ccacgacgcc	agcgccgca	480
	ccaccaacac	cgccgccac	catcgctcg	cagccccgtg	ccctgcgcc	agaggcgtgc	540
	cggccagcgg	cggggggcgc	agtgcacacg	agggggctgg	acttcgctg	tgattttgg	600
	gtgctggtgg	tggttggtgg	agtcctggct	tgctatagct	tgctagtaac	agtggccttt	660
	attattttct	gggtgaggag	taagaggagc	aggetcctgc	acagtgacta	catgaacatg	720
	actccccgcc	gccccgggcc	cacccgcaag	cattaccagc	cctatgcccc	accacgcgac	780
	ttcgcagcct	atcgtctcaa	acggggcaga	aagaaactcc	tgtatata	caaacaacca	840
	tttatgagac	cagtacaaac	tactcaagag	gaagatggct	gtagctgccc	atttccagaa	900
	taagaagaag	gaggatgtga	actgagatg	aagttcagca	ggagcgcaga	cgcccccgcg	960
	tacaagcagc	gccagaacca	gctctataac	gagctcaatc	taggacgaag	agaggatgac	1020
	gatgftttgg	acaagagacg	tggccgggac	cctgagatgg	ggggaaagcc	gagaaggaag	1080
	aaccctcagg	aaggcctgta	caatgaactg	cagaaagata	agatggcggg	ggcctacagt	1140
	gagattggga	tgaaggcgga	gcgccggagg	ggcaaggggc	acgatggcct	ttaccagggg	1200
	ctcagtaacg	ccaccaagga	cacctacgac	gccttcaca	tgaggccct	gccccctcgc	1260
	tga						1263

<210> 196
 <211> 1257
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37731 CAR

<400> 196	atggccttac	cagtgaccgc	cttgctcctg	ccgctggcct	tgctgctcca	cgccgccagg	60
	ccgggttaacc	aggtaaagct	ggaggagtct	gggggaggct	tggtgcaggc	tggggggtct	120
	ctgagactct	cctgtgtagc	ctctggaacc	atcgtcagta	tcagtaccat	gggctgggtc	180
	cgccaggctc	cagggaaagca	gcgcgagtgg	gtcgcgacta	taaccaggcg	tggacgcacg	240
	aactafacag	actccgtgaa	gggcccattc	accatctcca	gagacaacgc	caaaaacacg	300
	gtgtatctgc	aaatgaacag	cctgaaacct	gaggacacag	ccgtctatta	ctgtaatgca	360
	gaggtgcaac	tggafatata	ggcatctgcg	tatgactact	ggggccaggg	gaccagggtc	420
	accgtcgctc	caacgcgtcg	catgcatact	agtaccacga	cgccagcggc	gcgaccacca	480
	acaccggcgc	ccaccatcgc	gtcgcagccc	ctgtccctgc	gcccagaggc	gtgcccggca	540
	gccccggggg	gcgcagtgca	cacgaggggg	ctggacttcg	cctgtgattt	ttgggtgctg	600
	gtggtggttg	gtggagtccct	ggcttgctat	agcttgctag	taacagtggc	ctttattatt	660
	ttctgggtga	ggagtaagag	gagcaggctc	ctgcacagtg	actacatgaa	catgactccc	720
	cgccgccccg	ggccccaccg	caagcattac	cagccctatg	ccccaccacg	cgacttcgca	780
	gcctatcgtc	ccaaacgggg	cagaaagaaa	ctcctgtata	tattcaaaca	accatttatg	840
	agaccagtac	aaactactca	agaggaagat	ggctgtagct	gcccatttcc	agaagaagaa	900
	gaaggaggat	gtgaactgag	agtgaagttc	agcaggagcg	cagacgcccc	cgcgtacaag	960
	cagggccaga	accagctcta	taacgagctc	aatctaggac	gaagagagga	gtacgatgtt	1020
	ttggacaaga	gacgtggccg	ggaccctgag	atggggggaa	agccgagaa	gaagaacctt	1080
	caggaaggcc	tgtacaatga	actgcagaaa	gataagatgg	cggaggccta	cagtgagatt	1140

gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcagcatg gcctttacca gggctctcagt 1200
 acagccacca aggcacaccta cgagcgcctt cacatgcagg ccctgcccc tcgctga 1257

<210> 197
 <211> 1239
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38 38A37326 CAR

<400> 197
 atggccttac cagtgaccgc cttgtcctcg ccgctggcct tgetgtctca cgccgccagg 60
 ccggttaacg aggtgcagct ggtggagctt gggggaggat tgggtgcaggc tgggggctct 120
 ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc acctatgcc aaggctggta tcgccaggct 180
 ccaggggaagc agcgcgactt ggtcgcaact attagtggtg cgggtaacac aaagtatgca 240
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac aatgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccgtttatt actgtgcccg gggtaaattg 360
 ttccctgctg cgaatgagta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
 cgcattgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 480
 gcgtgcagc cctgtccct gcgcccagag gcgtgcccgc cagcggcggg gggcgcagtg 540
 cacacgaggg gctgtgactt cgctgtgat ttttgggtgc tgggtgggtgt tgggtggagtc 600
 ctggcttgct atagcttget agtaacagtg gcctttatta fttctgggt gaggagtaag 660
 aggagcaggc tctgtcacag tgactacatg aactgactc cccgccgcc cgggccacc 720
 cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaacagg 780
 ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaaactact 840
 caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
 agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 960
 tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gactacgatg ttttggaaca gagacgtggc 1020
 cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctgaggaagg cctgtacaat 1080
 gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
 cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
 tacgacgccc ttcacatgca ggccttgcct cctcgtga 1239

<210> 198
 <211> 495
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMAx2 269A37946 GSI5014 CAR

<400> 198
 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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
 35 40 45
 Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 145 150 155 160
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
 165 170 175
 Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 180 185 190
 Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
 195 200 205

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 210 215 220
 Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
 225 230 235
 Ala Tyr Tyr Cys Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
 245 250 255
 Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
 260 265 270
 Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
 275 280 285
 Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
 290 295 300
 Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
 305 310 315
 Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
 325 330 335
 Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
 340 345 350
 Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
 355 360 365
 Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
 370 375 380
 Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
 385 390 395
 Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
 405 410 415
 Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
 420 425 430
 Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
 435 440 445
 Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
 450 455 460
 Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
 465 470 475 480
 Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490 495

<210> 199
 <211> 622
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMAX3 269A37946 GSI5015 CAR

<400> 199
 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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
 35 40 45
 Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
 50 55 60 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
 115 120
 Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 145 150 155 160
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
 165 170 175

Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 180 185 190
 Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
 195 200 205
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 210 215 220
 Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
 225 230 235 240
 Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
 245 250 255
 Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 260 265 270
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 275 280 285
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu
 290 295 300
 Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
 305 310 315 320
 Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
 325 330 335
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys
 340 345 350
 Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala
 355 360 365
 Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr
 370 375 380
 Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
 385 390 395 400
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 405 410 415
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 420 425 430
 Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
 435 440 445
 Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
 450 455 460
 Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 465 470 475 480
 Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 485 490 495
 Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 500 505 510
 Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 515 520 525
 Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 530 535 540
 Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 545 550 555 560
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 565 570 575
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 580 585 590
 Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 595 600 605
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 610 615 620

<210> 200
 <211> 483
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> CD38x2 38A37717 GSI5016 CAR

<400> 200
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
 Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
 Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
 Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu
 Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met
 Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu
 Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
 Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Cys Arg Ala Asn
 His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
 Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
 Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
 Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
 Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
 Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
 Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
 Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
 Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
 Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
 Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
 Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
 Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
 Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
 Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
 Pro Pro Arg

<210> 201
 <211> 604
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> CD38x3 38A37717 GSI5017 CAR

<400> 201
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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
35 40 45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65 70 75 80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
85 90 95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
115 120 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val
130 135 140
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu
145 150 155 160
Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met
165 170 175
Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu
180 185 190
Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn
225 230 235 240
His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
260 265 270
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
275 280 285
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
290 295 300
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
305 310 315 320
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
325 330 335
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
340 345 350
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
355 360 365
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
370 375 380
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
385 390 395 400
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
405 410 415
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
420 425 430
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
435 440 445
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
450 455 460
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
465 470 475 480
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
485 490 495
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
500 505 510
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
515 520 525
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys

530 535 540
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 545 550 555 560
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 565 570 575
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 580 585 590
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 595 600

<210> 202
 <211> 1488
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> ВСМАХ2 269А37946 GSI5014 CAR

<400> 202
 atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgtgctcgc 60
 cctcaggctc agctgggtga aagcggagga ggcttggctc agccaggagg cagcctgagg 120
 ctgtctctgc aggcctctgg cttacccttg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
 gcacctggaa aggagagggga gggagtgatc tgtatctctc gcagcgcagg cagcacatac 240
 tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgccaa gaagacagtg 300
 tacctgcaga tgatctccct gaagcctgag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
 gcagactgta gccgatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
 gtgagctccg gaggaggagg ctcccaggtg cagctggctg agtctggagg cggcctggtg 480
 cagcctggag gcagcctgag actgagctgt gaagcttcg gatttaccct ggactactat 540
 gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatctcc 600
 agatctgacg gctctacata ctatgccgat agtgtcaaag gacggttcac catctctaga 660
 gataatgcc aagaagacagt ctatctgcag atgattagcc tgaagcccga ggacacagcc 720
 gccctattact gcgcagcagg agcagattgt agtgggtatc tgagggacta tgagtttcgg 780
 gggcagggga cacaggtgac agtgagtctc atagtagcca cgcagccagc cgcagcagca 840
 ccaacaccgg cggccaccat cggctcgcag cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg 900
 ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tgcctgtgta tatctacatc 960
 tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc cttctcctgt cactggttat caccctttac 1020
 tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1080
 caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1140
 tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgctgacca gcagggccag 1200
 aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt tttagacaag 1260
 agactgccc gggaccctga agtgggggga aagccgagaa ggaagaacct tcaggaaggg 1320
 ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1380
 ggcgagcggc ggaagggcaa ggggcacgat ggcctttacc aggggtctcag tacagccacc 1440
 aaggacacct acgacgccct tcacatgcag gccctgcccc ctgcgctaa 1488

<210> 203
 <211> 1869
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> ВСМАХ3 269А37946 GSI5015 CAR

<400> 203
 atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cggcgcaccg 60
 cctcaggctc agctgggtcga gtcaggagga ggcttggctc agccaggagg ctccctgagg 120
 ctgtctctgc aggcctctgg cttacccttg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
 gcacctggaa aggagagggga gggagtgatc tgtatctcca gatctgacgg ctccacatac 240
 tatgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgccaa gaagacagtg 300
 tacctgcaga tgatcagcct gaagcccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
 gcagactgta ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
 gtgagctccg gaggaggagg ctcccaggtg cagctggctg agtctggagg cggcctggtg 480
 cagcctggag gctcccigag gctgtcttgc gaggcaagcg gcttaccctt ggattactat 540
 gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatcagc 600
 gcctccgacg gcagtaccta ctatgccgat tccgtcaaag gccggttcac catctccaga 660
 gcaatgcc aagaagacagt ctatctgcag atgactctc tgaagcctga ggatacagcc 720
 gccctattact gtgccgcagg agcagactgt agtggctatc tgagagatta tgagtttcgc 780
 gggcagggga cccaggtgac agtgtctagc ggaggaggag gcagccaggc ccagctggtg 840

```

gaatccggcg gaggcctggt gcagcccggc ggctccctga gactgtcctg tgaagcctcc 900
ggatttactc tggattatta cgctattgga tggttcagac aggcccttgg caaagaaaga 960
gaaygggtga tctgtatctc tcggagcgac ggctctacat actatgccga tagcgtcaag 1020
ggaagattta ccatctccag agataatgcc aagaagacag tgatctgca gatgatttcc 1080
ctgaagcccc aggacactgc cgcctattac tgtcagcag gagcagattg tagcgggtat 1140
ctgccccgatt atgaatttag aggacagggc actcaggtga cagtctcaag cactagtacc 1200
acgacgccag cgcgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgctcgca gcccttctcc 1260
ctgcgccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgag tgcacacgag ggggctggac 1320
ttgcctgtg atatctacat ctggcgccc ttggccggga cttgtgggtt ccttctcctg 1380
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 1440
caaccattta tgagaccagt acaaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 1500
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 1560
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 1620
gagtaggatg tttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 1680
aggaagaacc ctcaaggaag cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 1740
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1800
cagggctca gtacagccac caaggacacc tacgacgcc ttcacatgca ggccctgccc 1860
cctcgctaa 1869

```

<210> 204
 <211> 1452
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38x2 38A37717 GSIS016 CAR

```

<400> 204
atggccttgc ctgtcaccgc tctgtctgtg cctctggccc tgctgtctgca cgctgctaga 60
cccgaagtcc agctgggtcga aagtggggga ggccctgggtc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtctgtca tcgccaccgg caaggtgttc agcatctacg acatgggatg gtataggcag 180
gcaccaggaa agcagagaga gctgggtggcc gagatcacia gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcc tgtccggccc gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgccg ggccaatcac 360
gtgttccgag gatcctactg gggacagggg acccagggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatctgagg tgcagctggt ggagagcggg ggcggcctgg tgcaggccgg aggctctctg 480
agactgagct gtattgtctac cggcaaggtg tttctatctf acgatatggg ctggtatagg 540
caggcacctg gaaagcagag ggagctgggt gctgaaatca cctcctctgg aactaccat 600
tacgacgatt tcgtgagcgg caggtttacc atctcccgcg ataatgctaa aaacaccgctc 660
tacctgcaga tgaatactct gaaagctgaa gacacagccg tgtactattg tcgggctaac 720
catgtcttcc ggggctccta ttgggggcag ggaactcagg tcaccgtgtc atcaactagt 780
accacgacgc cagcgcggcg accaccaaca cgggcgcccc ccatcgcgfc gcagccccctg 840
tcccctcgcc cagaagcgtg cggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 900
gacttccgct gtgatattca catctggggc ccttggccc ggacttgtgg ggtcttctc 960
ctgtcactgg ttatcacctt ttactgcaaa cggggcagaa agaaactcct gtatattattc 1020
aaacaccat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg tagctgcaga 1080
tttccagaag aagaagaagg aggtatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gaggcgcgac 1140
gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1200
gaggagtacg atgttttggg caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1260
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1320
gcctacagtg agattgggat gaaagcagag cggcggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1380
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttccatg gcaggccctg 1440
ccccctcgt aa 1452

```

<210> 205
 <211> 1815
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38x3 38A37717 GSIS017 CAR

```

<400> 205
atggctctgc ctgtcaccgc actgtctgtg cccctggccc tgctgtctgca cggcgaaga 60
cctgaagtcc agctgggtcga atccggagga ggccctgggtc aggcaggagg ctcccctcgg 120
ctgtctgtca tcgccaccgg caaggtgttc agcatctacg acatgggatg gtataggcag 180
gcaccaggaa agcagagggg gctgggtggcc gagatcacia gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcc tgtccggccc gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgccg ggccaatcac 360

```

```

gtgtteggag gatcttactg gggacagggg acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatcccgagg tgcagctggt ggagtctgga ggcggcctgg tgcaggcccg aggcagcctg 480
agactgtcct gtattgctac cggcaaggtg ttttccatct acgatatggg ctggatcctg 540
caggccccctg gcaagcagag agagctgggt gctgaaatca catcctctgg aactaccat 600
tacgacgatt tcgtgagcgg caggtttacc atcctccgcg ataatgctaa aaacaccgtc 660
tacctgcaga tgaafactct gaaagctgaa gacaccgctg tgtactattg cagagctaac 720
catgtgttcg gaggaagcta ttggggccag ggcactcagg tgacagttag ctccggcggc 780
ggcggcagtg aagtgcagct ggtggagtc ggagggggcc tgggtgcagg cgccggctct 840
ctgcccctga gctgtattgc aactggaaaa gtgttttcca tttatgatat gggatggtac 900
agacaggccc ctgggaaaca gagagagctg gtggcagaaa tcacctctag tggaaactacc 960
cactatgatg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gggataatgc taaaaacct 1020
gtctacctgc agatgaacac tctgaaagct gaagataccg ccgtgtacta ttgtagggct 1080
aaccatgtct ttggggggtc atactggggg caggggactc aggtcaccgt ctcaccact 1140
agtaccacga cggcagcggc ggcaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1200
ctgtccctgc gccacagagg gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca caggagggg 1260
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggctctt 1320
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1380
ttcaaacac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1440
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttag caggagggg 1500
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1560
agagaggagt acgatgttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1620
ccgagaaggga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1680
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcggcggg ggggcaaggg gcacgatggc 1740
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccctca catgcaggcc 1800
ctgccccctc gctaa 1815

```

<210> 206
 <211> 502
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Біспецифічний CAR на основі однодоменого антитіла CD19XCD20

<400> 206

```

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

```

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr
 275 280 285
 Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His
 290 295 300
 Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser
 305 310 315 320
 Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
 325 330 335
 Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys
 340 345 350
 Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
 355 360 365
 Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
 370 375 380
 Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 385 390 395 400
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 405 410 415
 Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
 420 425 430
 Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
 435 440 445
 Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
 450 455 460
 Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
 465 470 475 480
 Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
 485 490 495
 Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 500

<210> 207
 <211> 489
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38XBСMA 38A37717 269A37346 GSI5001 CAR

<400> 207
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
 35 40 45
 Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 85 90 95
 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 130 135 140
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 145 150 155 160
 Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile
 165 170 175
 Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys
 180 185 190
 Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 195 200 205
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln
 210 215 220

Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala
 225 230 235 240
 Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln
 245 250 255
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
 260 265 270
 Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
 275 280 285
 Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
 290 295 300
 Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
 305 310 315 320
 Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
 325 330 335
 Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
 340 345 350
 Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
 355 360 365
 Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
 370 375 380
 Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
 385 390 395 400
 Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
 405 410 415
 Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
 420 425 430
 Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
 435 440 445
 Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
 450 455 460
 Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
 465 470 475 480
 Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485

<210> 208
 <211> 494
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38XVCSMA 38A37717 269A37346 GSI5002 CAR

<400> 208
 Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
 35 40 45
 Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 85 90 95
 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140
 Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 145 150 155 160
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu
 165 170 175
 Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
 180 185 190

Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
 195 200 205
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys
 210 215 220
 Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala
 225 230 235 240
 Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr
 245 250 255
 Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
 260 265 270
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 275 280 285
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 290 295 300
 Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
 305 310 315 320
 Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
 325 330 335
 Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350
 Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365
 Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 370 375 380
 Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 385 390 395 400
 Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 405 410 415
 Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 420 425 430
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460
 Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 209
 <211> 500
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> CD38XBCMA 38A37717 269A37346 GSI5003 CAR

<400> 209
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
 35 40 45
 Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 85 90 95
 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu
 165 170 175
 Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln
 180 185
 Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp
 195 200
 Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 210 215
 Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys
 225 230 235
 Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser
 245 250 255
 Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 260 265 270
 Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
 275 280 285
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 290 295 300
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 305 310 315 320
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 325 330 335
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 340 345 350
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 355 360 365
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly
 370 375 380
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 385 390 395 400
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 405 410 415
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 420 425 430
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 435 440 445
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 450 455 460
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 465 470 475 480
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 485 490 495
 Leu Pro Pro Arg
 500

<210> 210
 <211> 508
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5004 CAR

<400> 210
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
 35 40 45
 Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 85 90 95
 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
 100 105 110

Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
 115 120
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160
 Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 165 170 175
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr
 180 185 190
 Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly
 195 200 205
 Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 210 215 220
 Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val
 225 230 235 240
 Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr
 245 250 255
 Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe
 260 265 270
 Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
 275 280 285
 Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
 290 295 300
 Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 305 310 315 320
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 325 330 335
 Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 340 345 350
 Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
 355 360 365
 Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
 370 375 380
 Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
 385 390 395 400
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 405 410 415
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 420 425 430
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 435 440 445
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 450 455 460
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 465 470 475 480
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 485 490 495
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 500 505

<210> 211
 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5005 CAR

<400> 211
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
 35 40 45
 Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60

Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 85 90 95
 Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 130 135 140
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
 165 170 175
 Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 180 185 190
 Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe
 195 200 205
 Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg
 210 215 220
 Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
 225 230 235 240
 Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser
 245 250 255
 Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp
 260 265 270
 Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln
 275 280 285
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
 290 295 300
 Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
 305 310 315 320
 Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
 325 330 335
 Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
 340 345 350
 Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
 355 360 365
 Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
 370 375 380
 Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
 385 390 395 400
 Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
 405 410 415
 Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
 420 425 430
 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
 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
 485 490 495
 Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
 500 505 510
 Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 515

<210> 212
 <211> 489
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMAXCD38 269A37346 38A37717 GSI5006 CAR

<400> 212

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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val
165 170 175
Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln
180 185 190
Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp
195 200 205
Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
210 215 220
Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val
225 230 235 240
Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln
245 250 255
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
275 280 285
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
355 360 365
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 213
<211> 494
<212> PRT
<213> штучна послідовність

<220>

<223> BCMAXCD38 269A37346 38A37717 GSI5007 CAR

<400> 213

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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
 35 40 45
 Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile
 165 170 175
 Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln
 180 185 190
 Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly
 195 200 205
 Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 210 215 220
 Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala
 225 230 235 240
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly
 245 250 255
 Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
 260 265 270
 Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
 275 280 285
 Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
 290 295 300
 Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
 305 310 315 320
 Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
 325 330 335
 Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350
 Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365
 Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 370 375 380
 Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 385 390 395 400
 Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 405 410 415
 Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 420 425 430
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460
 Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 214

<211> 500
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> ВСМАХCD38 269A37346 38A37717 GSI5008 CAR

<400> 214

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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
 35 40 45
 Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Glu
 145 150 155 160
 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser
 165 170 175
 Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp
 180 185 190
 Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala
 195 200 205
 Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly
 210 215 220
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
 225 230 235 240
 Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala
 245 250 255
 Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
 260 265 270
 Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Thr Pro
 275 280 285
 Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
 290 295 300
 Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
 305 310 315 320
 Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
 325 330 335
 Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
 340 345 350
 Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
 355 360 365
 Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly
 370 375 380
 Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
 385 390 395 400
 Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
 405 410 415
 Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
 420 425 430
 Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
 435 440 445
 Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
 450 455 460
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 465 470 475 480
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala

485 490 495
 Leu Pro Pro Arg
 500

 <210> 215
 <211> 510
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> BCMAXCD38 269A37346 38A37717 GSI5009 CAR

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

435 440 445
 Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 450 455 460
 Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 465 470 475 480
 Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 485 490 495
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 500 505 510

<210> 216
 <211> 518
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMAXCD38 269A37346 38A37717 GSI5010 CAR

<400> 216
 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 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
 35 40 45
 Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 165 170 175
 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
 180 185 190
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile
 195 200 205
 Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu
 210 215 220
 Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val
 225 230 235 240
 Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 245 250 255
 Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 260 265 270
 Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 275 280 285
 Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
 290 295 300
 Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
 305 310 315 320
 Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
 325 330 335
 Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
 340 345 350
 Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
 355 360 365
 Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
 370 375 380
 Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu

```

385          390          395          400
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
405          410          415
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Gln Leu Asn Leu
420          425          430
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
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
485          490          495
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
500          505          510
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
515

```

<210> 217
 <211> 1521
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Біспецифічний CAR на основі однодоменого антитіла CD19хCD20

```

<400> 217
gccgccacca tggcettacc agtgaccgcc ttgctcctgc cgctggcctt gctgctccac 60
gccgccaggc cgcaggtaaa gctggaggag tctgggggag aattgggtgca gcctgggggg 120
cctctgagac tctcctgtgc agcctcggga aacatcttca gtatcaatcg catgggctgg 180
taccgccagg ctccagggaa gcagcgcgcg ttcgtcgcat ctattactgt tcgtgggata 240
acaaactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccattt ctgtagacaa gtccaaaaac 300
acgatttata tgcagatgaa cgcactcaaa cctgaggaca cggccgtcta ttattgtaat 360
gcagtgtctt caaacagggg ccccgactac tggggccagg ggaccaggt caccgtctcc 420
tcaggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc ggccggcagc gcggcggcag cccgggtgag 480
ctgggtggag ctgggggagg cttgggtgag gctggggatt ctctgagact ctctgtgct 540
gcctctggac gcacctcgg tattgttacc atgggctggt tccgcccaacc tccaggggag 600
gagcgtgaat ttgtagcagc tattaggtgg agtactggtg gcactrgcta tgcagactcc 660
gtgaaggggc gattcaccat ctcccagac aacgccaaag tcacggtaga tctgcaaagt 720
gacagcctga aacctgaaga cacggccgtt tattactgtg cagcagatag actgtccctt 780
gatttaagtg gtcgttacca ctacaacccc gccgtgtatg actattgggg ccaggggacc 840
caggtcaccg tctcctcaat tgaagttatg tatectctc cttacctaga caatgagaag 900
agcaatggaa ccattatcca tgtgaaaggg aaacaccttt gtccaagtcc cctatttccc 960
ggaccttcta agccctttg ggtgctggtg gfggttgggt gagtccctggc ttgctatagc 1020
ttgctagtaa cagtggcctt tattatttct tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg 1080
cacagtact acatgaacat gactccccgc cggcccgggc ccaccgcgaa gcattaccag 1140
ccctatgccc caccacgca cttcgcagcc tatcgtcca gagtgaagtt cagcaggagc 1200
gcagacgccc ccgctacca gcagggccag aaccagctct ataacgagct caatctagga 1260
cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag agacgtggcc gggaccctga gatgggggga 1320
aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggg ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg 1380
gcggaggcct acagtgatg tgggatgaaa ggcgagcgc ggaggggcaa ggggcacgat 1440
ggcctttacc aggtctcag tacagccacc aaggacacct acgacgccct tcacatgag 1500
gccctgcccc ctgctgata a
1521

```

<210> 218
 <211> 1470
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38хBCMA 38A37717 269A37346 GSI5001 CAR

```

<400> 218
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cggcgcaaga 60
cccgaagtcc agctgggtga atctggcgga ggccctggtc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtctgca tcgccaccgg caaggtgtc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctgggtggc gagatcaca gctccggcac cacacactac 240
gacgatttgc tgtctggccc gtttaccatc agcagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300

```

```

ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacagggg acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggcagccagg tgcagctggt ggagtcaggg ggaggcctgg tgcagccagg aggcctctctg 480
aggtgagctc gcgagggcatc cggattcacc ctggactact atgccatcgg ctggtttagg 540
caggcacctg gaaaggagag ggagggagtg atctgtatct ccagatctga cggctccaca 600
tactatgccg attctgtgaa gggcagggtc accatctctc gcgataacgc caagaagaca 660
gtctacctgc agatgatcag cctgaagccc gaggacaccg cagcatacta ttgcgcagca 720
ggagcagatt gtagtggcta tctgagggac tacgagttcc gagggcaggg gacacaggtg 780
accgtgagca gcaactagta cacgacgcca gcgcccgcac caccaacacc ggcgccacc 840
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccc a gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 900
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 960
acttggtggg tccctctcct gtcactgggt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaa 1020
aaactcctgt atatatccaa acaaccattt atgagaccag tacaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc cctcgcgtac cagcagggcc agaaccagt ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga aaggtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 1260
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cttcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcagcgc ccggaggggc 1380
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1440
cttcacatgc aggccctgcc cctcgcctaa 1470

```

<210> 219
 <211> 1485
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5002 CAR

```

<400> 219
atggctctgc ccgtcactgc tctgtctgctg cccctggctc tgctgtctga cgetgetcgc 60
cctgaagtcc agctggctga atccggcggg ggcctgggtc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tcgccaccgg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtgccc gagatcacia gctccggcac cacacactac 240
gargatttrg tgtccggccc gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gatcctactg gggacagggg acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatctggcg gaggaggcag ccaggtgcag ctggtgaggc ctggaggagg cctgggtgcag 480
ccaggaggct ctctgaggct gagctgcgag gcateccgat tcaccctgga ctactatgcc 540
atcggctggg ttaggcaggc acctgaaaag gagaggaggg gagtgtctg fatctccaga 600
tctgacggca gcacatacta tgcgattcc gtgaagggca ggttcaccat ctctcgcgat 660
aacgccaaga agacagtcta cctgcagatg atcagcctga agcccaggga caccgcagca 720
tactattgag cagcaggagc agattgtagc ggctatctga gggattatga gtttagaggg 780
cagggaaacac aggtgacagt gaggcagcact agtaccacga cgccagcgc ggcaccaaca 840
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 900
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
gcgcccttgg ccgggacttg tgggtctctt ctctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaaac catttatgag accagtacaa 1080
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttcag aagaagaaga aggaggatgt 1140
gaaactgagag tgaagtccag caggagcgc gaacgccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat ggggggaaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
taraatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
gagcgcggga gggcaaggg gcacgatggc cttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1485

```

<210> 220
 <211> 1503
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5003 CAR

```

<400> 220
atggccctgc ctgtcaccgc actgtctgctg cccctggctc tgctgtctga cggcgcagc 60
cctgaagtcc agctggctga gtccggggga ggcctgggtc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tcgccaccgg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtgccc gagatcacia gctccggcac cacacactac 240

```



```

gacgatttcg tgagcggccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
tctggaggag gatcctactg gggacagggg acccaggtga cagtgtctag cggcggcggc 420
tctggaggag gaagcggagg aggatctgga ggaggctctc aggtgcagct ggtggagagc 480
ggaggaggcc tggtcagacc aggaggcagc ctgcggctgt cctgcaggcc ctctggcttc 540
accctggact actatgccat cggctgggtt aggcaggcac ctgaaaagga gagggagggg 600
gtgatctgta tctccagatc tgacggctct acatactatg ccatagcgtg gaagggcagg 660
ccagcgcggc gaccaccaac accggcgccc accatcgcgt cgcagccctt gtcctgcyg 720
cccaggagca ccgagcaca ctattgcgca gcaggagcag attgtagcgg gtatctgcyg 780
gattatgagt ttagaggaca ggggacacag gtcacagtca gttccactag taccacgagc 840
ccagcgcggc gaccaccaac accggcgccc accatcgcgt cgcagccctt gtcctgcyg 900
ccagaggcgt gccggccagc ggccgggggg gcagtgacaca cgagggggct ggacttcgcc 960
tgtgatctct acatctgggc gcccttgccc gggacttgty gggctctctt cctgtcactg 1020
gttatcacc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cccccccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggagc 1320
aacctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcggg ggcctacagt 1380
gtgatgggga tgaaggcga gcgcccggag ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440
ctcagttacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctgc 1500
taa

```

<210> 221
 <211> 1527
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38хВСМА 38A37717 269A37346 GSI5004 CAR

```

<400> 221
atggctctgc ctgtgaccgc cctgtctctg cccctggctc tgctgtctga cggccgacga 60
cccgaagtcc agctgggtgga atctggggga ggccctggtc aggcaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgca tcgcccaccg caaggtgttc tctatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccagcca agcagagaga gctgggtggc pagatecaaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgagcggccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacagggg acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatccggag gaggaggatc tggaggcggc ggccggcggc cggctcttg cggcggcggc 480
tcccaggtgc agctgggtgga gtctggaggg ggccctggty agccaggagg ctccctgcyg 540
ctgtcttggc agccagcggc cttacccttg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 600
gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc tgtatcagca gatccgacgg ctctacatac 660
tatgccgata gcgtgaaggg caggttcacc atcagccgcg ataaccgcaa gaagacagtc 720
tacctgcaga tgatctccct gaagcccagc gacaccgagc catactattg cgcagcagga 780
gcagattgta gcggtatct gcgggattac gaggtttagg gacagggcac ccaggtcacc 840
gtctcaagca ctagtaccac gacgcccagc ccgacccac caacaccggc gccaccatc 900
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgcccgc cagcggcggg gggcgcagtg 960
cacacgaggg ggctggactt ccctgtgtat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1020
tgtggggctc ttctcctgtc actggttatc accctttact gcaaacgggg cagaaaagaa 1080
ctcctgtata tattcaaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1200
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccc ggaacctgag 1320
atggggggaa agccgagaag gaagaacctc caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag cgcagcggcg gaggggcaag 1440
gggcacgatg gcccttacca gggctctcagt acagccacca aggacaccta cgcagccctt 1500
cacatgcagg ccctgcccc tcgctaa

```

<210> 222
 <211> 1557
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD38хВСМА 38A37717 269A37346 GSI5005 CAR

```

<400> 222
atggctctgc ctgtcactgc tctgtctctg cccctggccc tgctgtctga cgtgtctaga 60

```

```

cccgaagtcc agctggtgga gtcggcgga ggcctggtgc aggcaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgca tcgccaccgg caagggttc agcatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcacaac gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg fgagcgccg gttaccatc tccagagaca acgccaaaga tacagtgtat 300
ctgcagatga acacctgaa ggcccaggat acagccgtgt actatgtcgg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccagggtg cagtgtctag cggaggagga 420
ggatccggag gaggaggatc tggaggcggc ggcggcggct ccggctctgg cggcggcggc 480
agtggaggcg gcggctcgg cgccggcggc tctcagggtc agctggtgga gtccggagga 540
ggcctggtgc agccaggagg ctccctcggc ctgtcttggc aggcagcggc cttaccctcg 600
gactactatg ccacggctg gtttaggcag gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc 660
tgtatcagca gatccgacgg ctctacatac tatgcccata gcgtgaaggg caggttcacc 720
atctcccggc ataaccgcaa gaagacagtc tacctgcaga tgatctctct gaagcccag 780
gacaccgcag catactattg cgcagcagga gcagattgtt caggctatct gcgggattat 840
gagtttcggg gacaggggac acaggtcaca gtctccagca ctagtaccac gacgccagcg 900
ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgcagc cctgtccctc gcgccagag 960
gcgtggccggc cagcggcggg ggcgcagtg ccaccagggg ggcctgactt gcctgtgat 1020
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggtcc ttctctgtc actggttatc 1080
acccttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctctgtata tattcaaaac accatttatg 1140
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttc agaagaagaa 1200
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagaccctcc cgggtaccag 1260
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1320
ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaccct 1380
caggaagggc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1440
gggataaag gtcagcgcgg gggggcaag gggcacgat gcctttacca gggtctcagt 1500
acagccacca agdacaccta cgacgccctt cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 1557

```

<210> 223
 <211> 1470
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5006 CAR

```

<400> 223
atggctctgc ccgtcaccgc tctgtctctg cctctggctc tgctgtctga cggcccccgc 60
cctcaggctc agctggtcga gtcaggagga ggcctggtgc agccaaggagg cagcctgagg 120
ctgtctctgc aggcctctgg cttaccctg gactactatg ccacggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg ctctacatac 240
tatgccgata gcgtgaaggc ccggctacc atctctagag acaaccgcaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagcagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagatctgt ccgataacct gaggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gcggcggcgg cagcaggtg cagctggtgg agtccggagg agcctggtg 480
caggcaggag gcagcctcgg gctgtctgc atcggcaccg gcaaggtgtt cagcatctac 540
gatatgggat ggtataggca ggcaccagga aagcagagag agctggtggc cgagatcaca 600
tctagcggca ccacacacta cgacgattc gtgtccggcc ggttactat ttccagggac 660
aacgccaaaga atacagtgt tctgcagatg aataccctga aggccgagga tacagccgtg 720
tactattgta gagcaaatca tgtcttcggg gggctctatt gggggcaggg cactcaggct 780
accgtctcct caactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccacacc ggcgccacc 840
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccc gaggcgtgcc ggcagcggc gggggcgcga 900
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatactaca tctgggcgcc cttggccggg 960
acttggtggg tccttctcct gtcactgggt atcacccttt actgcaaac gggcagaaag 1020
aaactcctgt atatatcaaa acaaccatt atgagaccag tacaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggacct 1260
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1380
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgc 1440
cttcacatgc aggcctcgc ccctcgctaa 1470

```

<210> 224
 <211> 1485
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5007 CAR

<400> 224
atggctctgc ccgctactgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctcgc 60
ccacaggctc agctggctga atcaggggga ggcttggctc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg ctcacacatac 240
tatgccgatt ctgtgaaggg cgggttcacc atctctagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactggt ccggatacct gagggattat gaggtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atctggcggg ggaggcagcg aggtgcagct ggtgagctcc 480
ggcggcggcc tgggtgcaggc cggcggcagc ctgctggctg cctgcatcgc caccggcaag 540
gtgttctcta tctacgatat gggatggtat aggcaggcac caggaaagca gagagagctg 600
gtggccgaga tcacatctag cggcaccaca cactacgacg atttcgtgag cggccggttt 660
accatctcca gagacaacgc caagaataca gtgtatctgc agatgaatac cctgaaggcc 720
gaggatacag ccgtgtacta ttgtagagcc aacctgtctc tcggcgggtc atactggggg 780
cagggaaactc aggtcactgt cagcagcact agtaccacga cgcagcggcc ggcaccacca 840
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gccagaggc gccccggcca 900
gccccggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacaictgg 960
gcccccttgg cgggacttg tggggctctt ctctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc gatttccag aagaagaaga aggagatgt 1140
gaactgagag tgaagttcag caggagcgcg gacgccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggctg 1320
tacaatgaac tgcagaagga taagatggcg gaggcctaca ytgagattgg gatgaaggc 1380
gagcgcggga ggggcaaggg gcacgatggc ctttacagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctacg acgcccctca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1485

<210> 225
<211> 1503
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> ВСМАхCD38 269A37346 38A37717 GSI5008 CAR

<400> 225
atggctctgc ccgctactgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaagg 60
cctcaggctc agctggctga atcaggggga ggcttggctc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg cgggttcacc atctccagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactggt ccggatacct gagggattat gaggtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggaa gggaggaggg tccggaggcg gctctggcgg cggcagcgag 480
gtgcagctgg tggagctcgg cggcggcctg gtgcaggccg gcccctcctt gcccgtgctc 540
tgcattgcga ccggcaaggg gttcagcctc tacgatatgg gatggtatag gcaggacca 600
ggaaagcaga gagagctggg gggcagatc acatctagcg gcaccacaca ctacgacgat 660
ttcgtgtctg gccggtttac catcagtagg gacaacgcc aagaatacagt gtatctgcag 720
atgaataccc tgaaggccga ggatacagcc gtgtactatt gtagagctaa ccatgtcttc 780
ggggggctat actgggggca gggcactcag gtcactgtct catccactag taccagacg 840
ccagcggcgc gaccaccaac accggcggcc accatcgcgt cgcagcccct gtcctgcgc 900
ccagaggcgt gccggccagc ggcggggggc gcagtcaca cgagggggct ggaettcgc 960
tgtgatctct acatctgggc gcccttggcc gggacttgtg gggctctct cctgtcactg 1020
gttatcacc cttactgcaa accgggcaga aagaaactcc tgtatattt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgrrc atttccagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagatg aagttcagca ggagcgcaga cgcctccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaate taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaa 1320
aacctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaagata agatggcggg ggcctacagt 1380
gagattggga tgaaggcga gcgcgggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1500
taa 1503

<210> 226
<211> 1533
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5009 CAR

<400> 226
atggctctgc cgcgcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaagg 60
cctcagggtcc agctggctga atcaggggga ggccctgggtc agccaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgcg aggcataccg attcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgcaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctcctt gaagccagag gataccgcag cactactatg cgcagcagga 360
gcagactggt ctggatacct gagggattat gaggtttaggg gacaggggaa ccagggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atccggcgga ggaggctctg gaggcggcgg cggcggcagc 480
ggctccggcg gcggcggtc cgaggtgcag ctgggtgggt ctggaggagg cctgggtcag 540
gcaggaggct ctctgcggct gagctgcatc gccaccggca aggtgttcag catctacgat 600
atgggatggt ataggcaggc accaggaaag cagagagagc tgggtggcga gatcacatct 660
agcggcaccg cacactacga cgatttcgtg tctggccggg ttactattc cagggacaac 720
gccaagaata cagtgtatct gcagatgaat accctgaagg ccgaggatac agccgtgtac 780
tattgtagag ctaatcacgt cttcggcggc tcttattggg ggcagggaaac tcaggctact 840
gtgtcatcca ctgactatg taccacgac ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 900
accatcgct cgagcccc tccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcggggggc 960
gcagtgaca cgagggggct ggacttcgct tgtgatctc acatctgggc gccctggcc 1020
gggacttggt gggctctctt cctgtcactg gttatcacc ttactgcaa acggggcaga 1080
aagaaactcc tgtataatt caacaacca ttatgagac cagtacaac tactcaagag 1140
gaagatggct gtagctgccc attccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 1200
aagttcagca ggagcgcaga cgcgccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 1260
gagctcaatc taggacgaag agaggagtc gatgttttg acaagagac tggccgggac 1320
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aacctcagg aaggcctgta caatgaactg 1380
cagaagata agatggcggg gccctacagt gagattggga tgaaggcga gcgctggagg 1440
ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1500
gcccttcaca tgcaggccct gcccccctgc taa 1533

<210> 227
<211> 1557
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5010 CAR

<400> 227
atggctctgc cgcgcaccgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcagggtcc agctggctga atcaggagga ggccctgggtc agccaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgcg aggcataccg attcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagagggg gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atctccagag acaacgcaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctcctt gaagccagag gataccgcag cactactatg cgcagcagga 360
gcagactgta gcggatacct gagggattat gaggtttaggg gacaggggaa ccagggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atccggcgga ggaggctctg gaggcggcgg cggcggcagc 480
ggctcaggag gcggaggaag cggcggcgcc ggctccggcg gcggcggctc tgagggtcag 540
ctgggtgaga gcggagggg cctggtgcag gcaggaggct ctctgcggct gagctgcatc 600
gccaccggca aggtgtctc catctacgat atgggatggt ataggcaggc accaggaaag 660
cagagagagc tgggtggcga gatcacatct agcggcacc cactactcga cgatttcgtg 720
tctggccggg ttaccatcag tagggacaac gccagaata cagtgtatct gcagatgaat 780
accctgaagg ccgaggatac agccgtgtac tattgtagag ctaatcatgt gtttaggagg 840
tcatactggg gccagggaaac tcaggctact gtctcatcaa ctagtaccac gacgcagcg 900
ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcgtcgcagc cctgtccct gcgcccagag 960
gcgtgcccggc cagcggcggg ggcgcagtg cacacgagg ggetggactt cgcctgtgat 1020
atctacatct gggcgcctt ggcgggact tgtggggctc ttctctgtc actgggtatc 1080
accctttact gcaaacgggg cagaagaaga ctctgtata tattcaaaac accatttatg 1140
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttc agaagaagaa 1200
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgccc cgcgtaccag 1260
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtagcatggt 1320
ttggacaaga gacgtggccg ggacctgag atggggggaa agccgagaag gaagaacct 1380
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagttagatt 1440
gggatgaaa gcgagcggc gaggggcaag gggcacgat gcctttacca gggctcagat 1500
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 1557

<210> 228
<211> 663
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> CD28 TM і CD28-CD3 зета внутрішньоклітинний домен сигналізації

<400> 228

```
attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60
catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagcccttt 120
tgggtgctgg tgggtggtgg tggagtcctg gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc 180
ttfattattt tctgggtgag gagtaagagg agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac 240
atgactcccc gccgccccgg gccaccgcc aagcattacc agccctatgc cccaccaccg 300
gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgctac 360
cagcagggcc adaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 420
gttttggaca agadacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 480
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 540
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcacg atggccttta ccagggtctc 600
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggccctgcc cctcgcctga 660
taa
```

<210> 229

<211> 23

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер зворотного напрямку CALL001

<400> 229

gtcctggctg ctcttctaca agg 23

<210> 230

<211> 23

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер прямого напрямку CAL002

<400> 230

ggtacgtgct gttgaactgt tcc 23

<210> 231

<211> 29

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер зворотного напрямку ВАСК-1

<400> 231

gatgtgcagc tgcaggagtc tggaggagg 29

<210> 232

<211> 29

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер прямого напрямку ВАСК-2

<400> 232

gatgtgcagc tgcaggagtc tgggggagg 29

<210> 233

<211> 34

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер прямого напрямку РМСФ
 <400> 233
 ctagtgcggc cgctgaggag acggtgacct gggt 34
 <210> 234
 <211> 6
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> EcoRI ділянка рестрикції
 <400> 234
 gaattc 6
 <210> 235
 <211> 6
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> SpeI ділянка рестрикції
 <400> 235
 actagt 6
 <210> 236
 <211> 6
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> HpaI ділянка рестрикції
 <400> 236
 gttaac 6
 <210> 237
 <211> 6
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> MluI ділянка рестрикції
 <400> 237
 acgcgt 6
 <210> 238
 <211> 6
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> NsiI ділянка рестрикції
 <400> 238
 atgcat 6
 <210> 239
 <211> 2307
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> тандем ВСМА, CD38 269A37346 38A37717 GSI5013 CAR
 <400> 239
 atggccttac cagtgaccgc ctgtctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

```

ccggttaacg aggtgcagct ggtggaagc ggggggggac tgggtcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgttttagca tctaccgacat gggctgggtat 180
aggcaggcac caggaaagca gaggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggtt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcacgtct tcggcggctc ctactggggg cagggaaactc aggtcactgt gtcatccacg 420
cgtcgcatgc atactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgcgtcgc agccccctgtc cctgcgcccc gagggcgtgcc ggccagcggc gggggggcga 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatacaca tctggggccc ctggccggg 600
acttggtggg tccttctcct gtcactggtt atcaccttt actgcaaacg gggcagaaag 660
aaactcctgt atatatcaaa acaaccaftt atgagaccag tacaactac tcaagaggaa 720
gatggctgta gctgcccatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtga attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
aagggacacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctaccgccc 1080
cttcacatgc aggccctgcc cctcgcggc agtggagagg gcagaggaag tctgctaaca 1140
tgcggtgacg tgcaggagaa tcctggcccc ggatccatgg ccttaccagt gaccgccttg 1200
ctcctgcccg tggccttgct gctccacgcc gccaggccgg ttaaccgcac gcctcgcag 1260
agctgggtgga agctgggtgga gtctggggga ggttgggtc agcctggggg ttctctgagg 1320
ctctcctgty aagcctctgg attcactttg gattattatg ccataggctg gttccgccag 1380
gccccagggg aggagcgcga gggggtcata tgtattagta gaagtgatgg tagcacatac 1440
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaaaacgggtg 1500
tatctgcaaa tgatcagcct gaaacctgag gacacggccg cttattactg tgcagcaggg 1560
gccgattggt cgggggtacct acgagattat gagttccggg ggcagggggac ccaggtcacc 1620
gtctcctcaa ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 1680
gcgtcycagc cctctgcccct gcgccagag gcgtgcccgc cagcggcggg gggcgcagtg 1740
cacacgaggg gctggactt cgcctgtgat atctacatc tggcgcccct ggccgggact 1800
tgtggggctc ttctcctgtc actggttata accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1860
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1920
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1980
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 2040
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 2100
atggggggaa agccgagaag gaagaacct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 2160
gataagatgg cggaggccta cagtgaatt gggatgaaag gcgagcgcgg gaggggcaag 2220
gggcacgatg gcctttacca ggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgcctt 2280
cacatgcagg ccctgcccc tcgctaa

```

<210> 240
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD19 VHH FR1

<400> 240
 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser
 20 25 30

<210> 241
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD19 VHH FR2

<400> 241
 Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Ala Phe Val Ala
 1 5 10

<210> 242
 <211> 32

<212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD19 VHH FR3
 <400> 242
 Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala
 20 25 30

<210> 243
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD19 VHH FR4
 <400> 243
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 244
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD20 VHH FR1
 <400> 244
 Pro Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly
 20 25 30

<210> 245
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD20 VHH FR2
 <400> 245
 Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala
 1 5 10

<210> 246
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> CD20 VHH FR3
 <400> 246
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
 20 25 30

<210> 247
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD20 VHN FR4

<400> 247
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 248
 <211> 357
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD19 CAR

<400> 248
 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 Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu
 20 25 30
 Val Gln Pro Gly Gly Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
 35 40 45
 Ile Phe Ser Ile Asn Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Gln Arg Ala Phe Val Ala Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr
 65 70 75 80
 Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys
 85 90 95
 Asn Thr Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
 100 105 110
 Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr Pro
 130 135 140
 Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val
 145 150 155 160
 Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys
 165 170 175
 Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
 180 185 190
 Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg
 195 200 205
 Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
 210 215 220
 Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe
 225 230 235 240
 Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 245 250 255
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
 260 265 270
 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
 275 280 285
 Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
 290 295 300
 Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
 305 310 315 320
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 325 330 335
 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 340 345 350
 Ala Leu Pro Pro Arg
 355

<210> 249
 <211> 369
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD20 CAR

<400> 249
 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 Pro Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
 35 40 45
 Thr Phe Gly Ile Gly Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly
 115 120 125
 Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala Val Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 130 135 140
 Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
 145 150 155 160
 Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His
 165 170 175
 Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
 180 185 190
 Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
 195 200 205
 Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
 210 215 220
 His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
 225 230 235 240
 Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
 245 250 255
 Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
 260 265 270
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
 275 280 285
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
 290 295 300
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
 305 310 315 320
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
 325 330 335
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
 340 345 350
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
 355 360 365
 Arg

<210> 250
 <211> 1077
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD19 CAR

<400> 250

```

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccgcaggtaa agctggagga gtctggggga gaattgggtc agcctggggg gcctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctcggg aaacatcttc agtatcaatc gcatgggctg gtaccgccag 180
gtctccagga agcagcgcgc gttcgtcgca tctattactg ilcgtgggat aacaaactat 240
gcagactccg tgaagggccg attcaccatt tctgtagaca agtccaaaaa cacgatttat 300
ctgcagatga acgcactcaa acctgaggac acggccgtct attattgtaa tgcagtgctc 360
tcaaacaggg accccgacta ctggggccag gggaccaggg tcaccgtctc cfcaattgaa 420
gttatgtatc ctctcctta cctagacaat gagaagagca atggaacctat taccatgtg 480
aaagggaaac acctttgtcc aagtcacctt ttcccgagc ctftaagcc cttttgggtg 540
ctggtggtgg ttggtggagt cctygccttc tatagcttgc tagtaacagt ggcttttatt 600
attttctggg tgaggagtaa gaggagcagg ctctgcaca gtgactacat gaacatgact 660
ccccgccgcc ccgggcccac ccgcaagcat taccagccct atgccccacc acgcgacttc 720
gcagcctatc gctccagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccccg gtaccagcag 780
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgtrttg 840
gacaagagac gtggccggga cctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 900
gaaggcctgt acaatgaact gcagaagat aagatggcgg aggcctacag tgagatggg 960
atgaaagggc agcgcggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1020
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctgataa 1077

```

<210> 251
 <211> 1113
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> CD20 CAR

```

<400> 251
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccgcaggtaa agctgggga gtctggggga ggcctgggtc agcctggggg tttctgaga 120
ctctcctgtg ctgcctctgg acgcaccttc ggtattggta ccatgggctg gttccgcaa 180
cctccagggg aggagcgtga attttagca gctattagggt ggagfactgg tggcactcgc 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctcccag acaacgcaa gctcacgga 300
gatctgcaaa tggacagcct gaaacctgaa gacacggccg tttattactg tgcagcagat 360
agactgtccc ttgatttaag tggctgttac cactacaacc ccgccgtgta tgactattgg 420
ggccagggga cccaggtcac cgtctctca attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta 480
gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt 540
cccctatttc ccggaccttc taagcccttt tgggtgctgg tgggtggttgg tggagtcctg 600
gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattattt tctgggtgag gagtaagagg 660
agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gccaccaccg 720
aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgac cctatcgctc cagagtgaag 780
ttcagcagga ccgcagacgc ccccgctac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggacctc 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcagcg ccggaggggc 1020
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacagcgc 1080
cttcacatgc aggccttgc cctcgtctga taa 1113

```

<210> 252
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> 137P2F праймер

<400> 252
 gtccttctcc tgtcactggt tat 23

<210> 253
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> 137P2R праймер

<400> 253
 tcttctctt ctggaatcg gca 23

<210> 254
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> лінкерна послідовність 3

<400> 254
 ggcggcggca gscggcggcg cagcggcggc ggcagcggcg gscggcagc

48

<210> 255
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> T2A

<400> 255
 Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Pro Gly Pro
 20

<210> 256
 <211> 63
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> T2A

<400> 256
 ggcagtgag agggcagagg aagtctgcta acatgcggtg acgtcgagga gaatcctggc
 cca

60
 63

<210> 257
 <211> 376
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5011 CAR 269A37346

<400> 257
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
 20 25 30
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
 115 120 125
 Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
 130 135 140
 Thr Gln Val Thr Val Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
 145 150 155 160
 Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg

165 170 175
 Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
 180 185 190
 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
 195 200 205
 Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
 210 215 220
 Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
 225 230 235 240
 Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
 245 250 255
 Glu Glu Glu Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
 260 265 270
 Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
 275 280 285
 Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
 290 295 300
 Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
 305 310 315 320
 Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
 325 330 335
 Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
 340 345 350
 Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
 355 360 365
 His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 370 375

<210> 258
 <211> 373
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5019 CAR 269A37353

<400> 258
 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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
 20 25 30
 Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg
 35 40 45
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
 50 55 60
 Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile
 65 70 75 80
 Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
 85 90 95
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 100 105 110
 Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
 115 120 125
 Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
 130 135 140
 Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
 145 150 155 160
 Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
 165 170 175
 Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
 180 185 190
 Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
 195 200 205
 Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
 210 215 220
 Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
 225 230 235 240
 Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu

```

                245                250                255
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
                260                265                270
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
                275                280                285
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
                290                295                300
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
305 Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
                310                315                320
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
                325                330                335
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
335
Ala Leu Pro Pro Arg
370

```

<210> 259
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5020 CAR 269A37917

```

<400> 259
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 Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
50 55 60
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser
65 70 75 80
Pro Thr Leu Ala Tyr Thr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
100 105 110
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
115 120 125
Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
130 135 140
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145 150 155 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
165 170 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
180 185 190
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
195 200 205
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
210 215 220
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
225 230 235 240
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
245 250 255
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
260 265 270
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
275 280 285
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
290 295 300
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
305 310 315 320
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met

```

325 330 335
 Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
 340 345 350
 Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
 355 360 365
 Leu Pro Pro Arg
 370

<210> 260
 <211> 369
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5012 CAR 38A37717

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

<210> 261

<211> 1131
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5011 CAR 269A37346

<400> 261
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
 gtgcaggctg ggggttctct gaggtctctc tgtgaagcct ctggattcac tttggattat 180
 tatgccatag gctgggtccg ccaggcccca ggaaggagc gcgaggggtt catatgtatt 240
 agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
 agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
 gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggf acctacgaga ttatgagttc 420
 cggggccagg ggaccsaggf caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgcgcgca 480
 ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagccccgtt ccttgcgccc agaggcgtgc 540
 cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcttg tgatatctac 600
 atctggggcg ccttggccgg gacttgtggg gtcctctctc tgactactgg tatcaccttt 660
 tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcttg tataattca aacaaccatt tatgagacca 720
 gtacaaacta tcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 780
 ggatgtgaac tgagagtga gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc 840
 cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 900
 aagagactgt gccgggacc ttagatgggg gaaagccga gaaggaagaa cctcaggaa 960
 ggccgtgaca atgaaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1020
 aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1080
 accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcgcta a 1131

<210> 262
 <211> 1122
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5019 CAR 269A37353

<400> 262
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
 gtgcaggctg ggcggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac ctfcagtagc 180
 catgcatggg gctgggtccg ccaggctcca ggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240
 ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
 agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360
 gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgattc ctgggggagc 420
 gggaccsagg tcaccgtctc ctgactagt accacgacgc cagcgcgcg accaccaaca 480
 ccggcgccca ccatcgcgtc gcagccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
 cggggggcgc cagtgcacac gagggggctg gacttcgctt gtgatatcta catctggggc 600
 cccctggccg ggaactgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcacctt tttactgcaa 660
 cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaaccat ttatgagacc agtacaact 720
 actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 780
 ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgct accagcaggg ccagaaccag 840
 ctctataacc agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgg caagagact 900
 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 960
 aatgaaactg agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1020
 cgcctggagg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1080
 accacgacg ccttcacatg gcaggccctg cccctcgct aa 1122

<210> 263
 <211> 1119
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5020 CAR 269A37917

<400> 263
 atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
 ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
 gtgcaggctg ggggttctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgac cttcacatg 180


```

gggtgggtcc gtcaggctcc agggaaggag cgtgagttg tagcagctat tagtttgagt 240
cctacttttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300
gccaagaaca cgggtggttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360
tactgtgcag cagaccgga atcagtaatg tctatfcggc ccgactactg gggccagggg 420
accaggtca ccgtctctc aactagtacc acgacgccag cgcgcgacc accaacaccg 480
gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcccagc aggcgtgccg gccagcggcg 540
gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttgcctgtg atatctacat ctgggcgccc 600
ttggccggga cttgtgggt ccttctctg tcaactggta tcacccttta ctgcacaacgg 660
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaaactact 720
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 780
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 840
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttgacaa gagcgtggc 900
cgggacctg agatggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 960
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1020
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggctca gtacagccac caaggacacc 1080
tacgacgccc ttcacatgca ggcctgtccc cctcgctaa 1119

```

<210> 264
 <211> 1110
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5012 CAR 38A37717

```

<400> 264
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgcctgtcca cggccgagg 60
ccgggttaacg aggtgcagct ggtggaagc ggggggggac tggtcagggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgttttagca tctacgacat gggctggtat 180
aggcagggcac caggaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatragca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcacgtct tcggcggctc ctactggggg cagggaaactc aggtcaactgt gtcattccacg 420
cgtcgcctgc atactagtac cagcagccca gcgcgcgac caccacacc ggcccccacc 480
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgcca gaggcgtgcc gccagcggc ggggggcgca 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatactaca tctgggcgcc ctfgccggg 600
acttgtgggt tccttctct gtcactggtt atcaccttt actgcaaacg ggcagaaag 660
aaactcctgt atatatcaa acaaccattt atgagaccag tacaactac tcaagaggaa 720
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggacct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aagcagagcg ccggaggggc 1020
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacagcgc 1080
cttcacatgc aggcctgtcc cctcgctaa 1110

```

<210> 265
 <211> 488
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5021 CAR

```

<400> 265
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 Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Leu
 20          25          30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
 35          40          45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50          55          60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
 65          70          75          80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85          90          95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100          105          110

```

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
 115 120 125
 Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
 145 150 155 160
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met
 165 170 175
 Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala
 180 185 190
 Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
 195 200 205
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln
 210 215 220
 Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala
 225 230 235 240
 Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 245 250 255
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
 260 265 270
 Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
 275 280 285
 Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
 290 295 300
 Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
 305 310 315 320
 Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
 325 330 335
 Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
 340 345 350
 Val Gln Thr Thr Gln Gln Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
 355 360 365
 Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
 370 375 380
 Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
 385 390 395 400
 Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
 405 410 415
 Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
 420 425 430
 Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
 435 440 445
 Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
 450 455 460
 Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
 465 470 475 480
 His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485

<210> 266
 <211> 498
 <212> PRT
 <213> штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5022 CAR

<400> 266
 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 Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
 35 40 45
 Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
 65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
 115 120 125
 Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 145 150 155 160
 Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 165 170 175
 Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
 180 185 190
 Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr
 195 200 205
 Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 210 215 220
 Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
 225 230 235 240
 Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met
 245 250 255
 Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
 275 280 285
 Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
 290 295 300
 Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
 305 310 315 320
 Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
 325 330 335
 Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 340 345 350
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 355 360 365
 Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 370 375 380
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
 385 390 395 400
 Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
 405 410 415
 Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
 420 425 430
 Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
 435 440 445
 Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
 450 455 460
 Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
 465 470 475 480
 Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
 485 490 495
 Pro Arg

<210> 267
 <211> 508
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5023 CAR

<400> 267
 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 Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30

Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
 35 40 45
 Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60
 Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
 65 70 75 80
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
 115 120 125
 Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 165 170 175
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
 180 185 190
 Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 195 200 205
 Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
 210 215 220
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 225 230 235 240
 Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 245 250 255
 Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
 260 265 270
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
 275 280 285
 Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
 290 295 300
 Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
 305 310 315 320
 His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
 325 330 335
 Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
 340 345 350
 Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
 355 360 365
 Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
 370 375 380
 Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
 385 390 395 400
 Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
 405 410 415
 Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
 420 425 430
 Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
 435 440 445
 Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
 450 455 460
 Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
 465 470 475 480
 Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
 485 490 495
 Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 500 505

<210> 268
 <211> 493
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5024 CAR

<400> 268
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
 35 40 45
 Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 50 55 60
 Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
 65 70 75 80
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 85 90 95
 Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 145 150 155 160
 Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
 165 170 175
 Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 180 185 190
 Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
 195 200 205
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 210 215 220
 Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 225 230 235 240
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
 245 250 255
 Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
 260 265 270
 Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
 275 280 285
 Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
 290 295 300
 Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
 305 310 315 320
 Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
 325 330 335
 Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
 340 345 350
 Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
 355 360 365
 Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
 370 375 380
 Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
 385 390 395 400
 Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
 405 410 415
 Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
 420 425 430
 Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
 435 440 445
 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
 Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 269
 <211> 498
 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> GSI5025 CAR

<400> 269

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
 35 40 45
 Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 50 55 60
 Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
 65 70 75 80
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 85 90 95
 Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 165 170 175
 Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg
 180 185 190
 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg
 195 200 205
 Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 210 215 220
 Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 225 230 235 240
 Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp
 245 250 255
 Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 260 265 270
 Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
 275 280 285
 Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
 290 295 300
 Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
 305 310 315 320
 Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
 325 330 335
 Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
 340 345 350
 Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
 355 360 365
 Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
 370 375 380
 Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
 385 390 395 400
 Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
 405 410 415
 Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
 420 425 430
 Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
 435 440 445
 Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
 450 455 460
 Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
 465 470 475 480
 Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
 485 490 495
 Pro Arg

<210> 270
 <211> 503
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5026 CAR

<400> 270
 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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
 35 40 45
 Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 50 55 60
 Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
 65 70 75 80
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 85 90 95
 Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln
 145 150 155 160
 Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser
 165 170 175
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val
 180 185 190
 Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala
 195 200 205
 Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 210 215 220
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu
 225 230 235 240
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 245 250 255
 Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
 260 265 270
 Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
 275 280 285
 Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
 290 295 300
 Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
 305 310 315 320
 Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
 325 330 335
 Gly Val Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
 340 345 350
 Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
 355 360 365
 Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
 370 375 380
 Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
 385 390 395 400
 Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
 405 410 415
 Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
 420 425 430
 Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
 435 440 445
 Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu


```

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggctc ttctcctgtc actgggtatc 1020
acccttfact gcaaacgggg cagaaagaaa ctccctgtata tattcaaaaca accatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgattfcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatggt 1260
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaay gaagaacctt 1320
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1440
acagccacca aggacacctt cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1497

```

<210> 273
 <211> 1527
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5023 CAR

```

<400> 273
atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctyca cgccgcaaga 60
ccacagggtca aactggaaga atcaggagga ggccctggctc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gtcccgtggcc gtgatcggct ggaggacat cttccatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggitcacc atcagccggg acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcccag gacaccgccc tgfactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgatayctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gaagcggcgg cggcggctct 480
ggcggcgccg gcagcagagt gcagctggty gagagcggcg gcggcctggt gcaggccggc 540
ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 600
caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 660
tactatgccg agagcgtgaa gggcagggtt accatctecc gcgataacgc caagaataca 720
gtggtgttac aatgaacag cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgcccgc 780
gatcgaaga gcgtgatgag cattagaccg gattattggg ggcaggggac acaggtgacc 840
gtgagcagca ctagtaccac gacgcagcgg ccgcgaccac caacaccggc gccaccatc 900
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgcccgg cagcggcggg gggcgcagtg 960
cacacagggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccttt ggccgggact 1020
tgtggggctc ttctcctgtc actggttatc accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1080
ctctgtata tattcaaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1200
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
aatctaggac gaagagagga gtaccgatgt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1320
atggggggaa agccgagaag gaagaacctt caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgcgg gaggggcaag 1440
gggcacgatg gcctttacca ggtctcagt acagccacca aggacacctt cgacgccctt 1500
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1527

```

<210> 274
 <211> 1482
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5024 CAR

```

<400> 274
atggctctgc ctgtgaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctyca cgccgcacga 60
cctgaagtcc agctgggtga atccggggga ggccctggctc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtctfvcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctec ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
agcgtgaagg gcaggtttac catctcccgc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtaactatt gcgcccggca tcggaagttc 360
gtgatgagca tcagaccgga ttactggggc cagggcaecc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggcctctcag gtgaagctgg aggagtcgg aggcggcctg 480
gtgcaggccg gacggteccct gagactgtct tgtgccgcca gcgagcacac ctctcttagc 540
cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct ggaaaggaga gggagtcctg ggcagtgatc 600
ggatggaggg acatcagcac atcciacgcc gattctgtga agggccgggt caccatcagc 660
agagacaacg ccaagaagac actgtattta caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc 720
gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt gacgcccag actttgactc atgggggag 780
ggaactcagg tgaccgtgfc ctcaactagt accacgagcg cagcggcggg accaccaaca 840

```

```

cgggcgcccc ccattcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg cgggccagcg 900
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg 960
ccccctggccg ggacttggtg ggctcttctc ctgtcacitg ttatcacctt ttactgcaaa 1020
cggggcagaa agaaactcct gtatatatte aaacaacctt ttatgagacc agtacaacct 1080
actcaagagg aagatggctg tagctgccga ttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1140
ctgagagtga agttcagcag gaggcgagac gcccccgctg accagcaggg ccagaaccag 1200
ctctataacg agctcaatct aggcgaaga gaggagtacg atgttttggg caagagacgt 1260
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1320
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaagggcag 1380
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1440
acctacagcg cccctcacat gcaggcccctg cccctcgcct aa 1482

```

<210> 275
 <211> 1497
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5025 CAR

```

<400> 275
atggccctgc ctgtaccgc tctgtctgtg cccctggccc tgctgtgca cggccgacgc 60
cctgagggtcc agctggtcga gtccggggga ggccctggtc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agtctgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccag 240
tctgtgaagg gcaggtttac catctctcgc gacaacgcc aagaatacagt ggtgtcgcag 300
atgaactccc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagaccga ttactggggc cagggcacc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggcctctggc ggccggcggc gccaggtgaa gctggaggag 480
agcggaggcg gectgtgca ggccggacgg tccctgagac tgtctgtgce cggcagcgag 540
cacaccttct ctagccacgt gatgggatgg ttcaggcagg cacctggaaa ggagagggag 600
tctgtggccg tgatcggctg gaggacatc agcacatcct acgcccgatg cgtgaagggc 660
cggttcacca tctccagaga caacgccaa aagacactgt atctgcagat gaatagcctg 720
aagcccagg ataccgccgt gtactattgt gccgcccggc ggattgacgc cgcagatttt 780
gattcttggg ggcagggaac tcagggtgacc gtgtcctcaa ctagtaccac gacgccagcg 840
cgcgaccac caacaccggc gccaccatc gcctgcagc cctgtccct cggcccagag 900
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 960
atctacatct gggcggcctt ggcgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1020
accctttact gcaaacgggg cagaagaaaa ctctgtata tattcaaa aaccatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
ttgacaaga gactggccg gaccctgag atggggggaa agccgagaag gagaacctct 1320
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380
gggatgaaag gcgagcggc gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca ggttctcagt 1440
acagccacca aggacacctt cgacgccctt cacatgcagg cctgcccc tcgctaa 1497

```

<210> 276
 <211> 1512
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> GSI5026 CAR

```

<400> 276
atggctctgc ctgtgaccgc cctgtctgtg cccctggccc tgctgtgca cggccgacga 60
cctgaagtcc agctggtgga atctggcggg ggccctggtc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agtctgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccag 240
tctgtgaagg gcaggtttac catcagccgc gacaacgcc aagaatacagt ggtgtcgcag 300
atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagaccga ttactggggc cagggcacc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggcctctggc ggccggcggc ccggcggcg cggctcccag 480
gtgaagctgg aggagtcgg aggcggcctg gtgcaggccg gacggtcctt gagactgtct 540
tgtgccgcca gcgagcacac ctctcttagc cacgtgatgg gatggttcag gaggcacct 600
ggaaaggaga gggagagcgt ggcagtgatc ggatggagg acatcagcac atcttacgcc 660
gattccgtga agggcgggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagaagac actgtattta 720
caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc gccgtgtact attgtggcg cggcgggatt 780

```

```

gatgccgcag actttgatag ttggggacag gggactcagg tcaccgtcag cagcactagt 840
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca cgggcccaca ccacgcgctc gcagccccctg 900
tccttgccgc cagagccgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 960
gaactgcctt gtgatattca catctgggcg cccttggccg ggacttgtgg ggctcttctc 1020
ctgtcactgg ttatcacctt ttactgcaaa cggggcagaa agaaaactct gtatatattc 1080
aaacaaccat ttatgagacc agtacaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 1140
ttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 1200
gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag cctataacg agctcaatct aggcagaaga 1260
gaggagtacg atgttttggg caagagacgt cggcgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1320
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1380
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cggcggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1440
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1500
ccccctcgt aa 1512

```

<210> 277
 <211> 768
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> тандем ВСМА, CD38 269A37346 38A37717 GSI5013 CAR

<400> 277

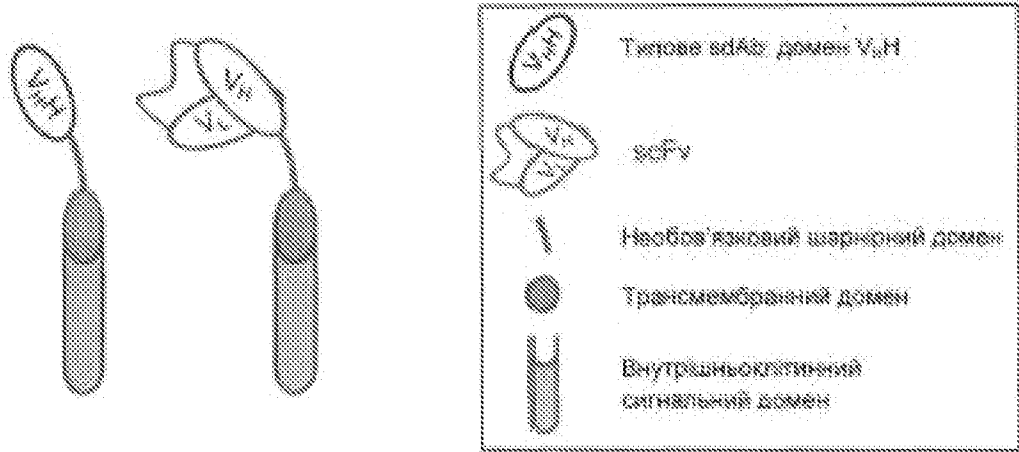
Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu
1				5					10					15	
His	Ala	Ala	Arg	Pro	Val	Asn	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
			20					25					30		
Gly	Leu	Val	Gln	Ala	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ile	Ala	Thr
		35					40					45			
Gly	Lys	Val	Phe	Ser	Ile	Tyr	Asp	Met	Gly	Trp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

Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val
 370 375 380
 Glu Glu Asn Pro Gly Pro Gly Ser Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu
 385 390 395
 Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg
 405 410 415
 Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 420 425 430
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
 435 440 445
 Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 450 455 460
 Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
 465 470 475 480
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 485 490 495
 Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 500 505 510
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
 515 520 525
 Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
 530 535 540
 Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
 545 550 555 560
 Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
 565 570 575 580
 Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
 585 590 595
 Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Ser Leu
 600 605 610
 Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
 615 620 625
 Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
 630 635 640
 Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 645 650 655
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 660 665 670
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 675 680 685
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
 690 695 700
 Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
 705 710 715 720
 Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
 725 730 735
 Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
 740 745 750
 Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 755 760 765

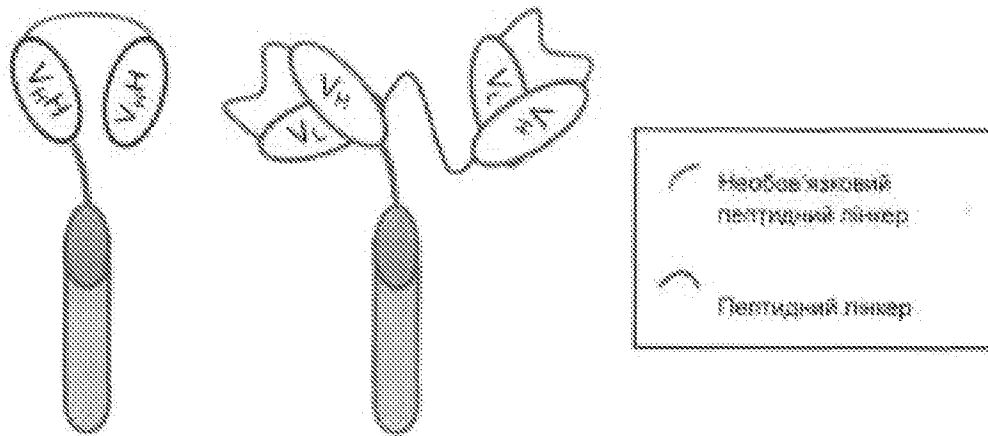
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Химерний рецептор антигенів (CAR), що містить поліпептид, який містить:
- 5 (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить перше однодоменне антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з першим антигеном, і друге sdAb, яке специфічно зв'язується з другим антигеном, причому і перше, і друге sdAb є доменами V_HH;
- (b) трансмембранний домен; а також
- 10 (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.
2. CAR за п. 1, який **відрізняється** тим, що перший антиген відрізняється від другого антигену.
3. CAR за п. 1 або 2, який **відрізняється** тим, що перше sdAb розташоване на N-кінці другого sdAb.
4. CAR за п. 1 або 2, який **відрізняється** тим, що перше sdAb розташоване на C-кінці другого sdAb.
- 15 5. CAR за будь-яким одним з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що перший антиген і другий антиген вибрані з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпиду F77.
6. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-BCMA sdAb.
7. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-CD38 sdAb.
- 20 8. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-CD19 sdAb.
9. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-CD20 sdAb.
10. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-CD22 sdAb.
11. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-BCMA sdAb, а друге sdAb є анти-CD38 sdAb.
- 25 12. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-BCMA sdAb, а друге sdAb є анти-CD19 sdAb.
13. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-CD19 sdAb, а друге sdAb є анти-CD20 sdAb.
14. CAR за п. 5, який **відрізняється** тим, що перше sdAb є анти-CD19 sdAb, а друге sdAb є анти-CD22 sdAb.
- 30 15. CAR за будь-яким одним з пп. 1-10, який **відрізняється** тим, що перший антиген є таким самим, як і другий антиген.
16. CAR за п. 15, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і друге sdAb специфічно зв'язуються з одним і тим самим епітопом, або перше sdAb і друге sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами.
- 35 17. CAR за п. 15 або 16, який **відрізняється** тим, що і перше sdAb, і друге sdAb є анти-BCMA sdAb.
18. CAR за будь-яким одним з пп. 1-17, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і/або друге sdAb є верблужим, химерним, людським або гуманізованим.
- 40 19. CAR за будь-яким одним з пп. 1-18, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і друге sdAb є безпосередньо злитими одне з одним за допомогою пептидного зв'язку.
20. CAR за будь-яким одним з пп. 1-18, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і друге sdAb є злитими одне з одним за допомогою пептидного лінкера.
21. CAR за п. 20, який **відрізняється** тим, що пептидний лінкер має довжину не більше ніж 50
- 45 амінокислот.
22. CAR за п. 1, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і/або друге sdAb є sdAb анти-CD19, яке містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3.
- 50 23. CAR за п. 1, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і/або друге sdAb є sdAb анти-CD20, яке містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6.
24. CAR за п. 1, який **відрізняється** тим, що перше sdAb і/або друге sdAb є sdAb анти-BCMA, яке містить будь-яку з наступних областей:
- 55 (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29;
- (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність
- 60 амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність

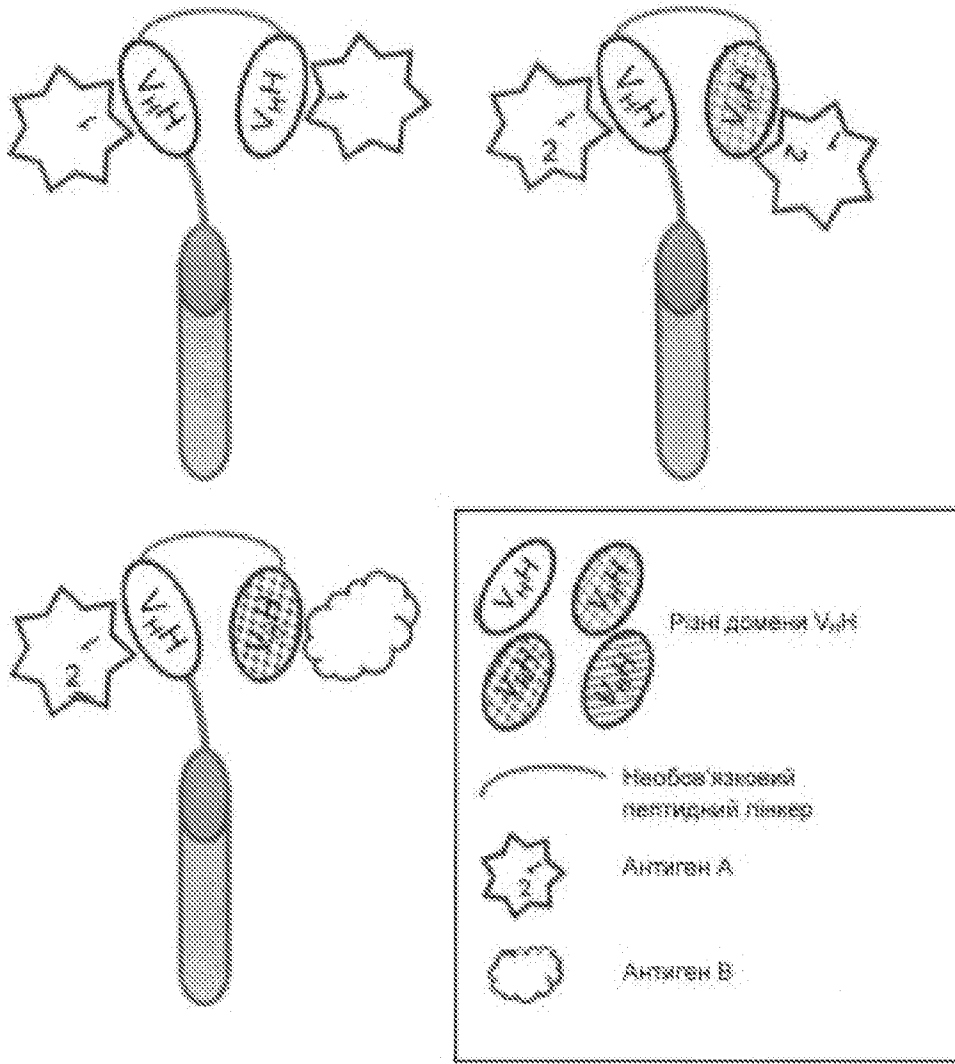
- (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; або
- 5 (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75.
26. CAR за будь-яким з пп. 1-25, який **відрізняється** тим, що трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8 α , CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1.
- 10 27. CAR за будь-яким з пп. 1-25, який **відрізняється** тим, що внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефektorної клітини.
28. CAR за п. 27, який **відрізняється** тим, що первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3 ξ .
- 15 29. CAR за будь-яким з пп. 1-28, який **відрізняється** тим, що внутрішньоклітинний сигнальний домен містить співстимулюючий сигнальний домен.
30. CAR за п. 29, який **відрізняється** тим, що співстимулюючий сигнальний домен є похідним від співстимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, CD83 і їх комбінацій.
- 20 31. CAR за будь-яким з пп. 1-30, який **відрізняється** тим, що додатково містить шарнірний домен, розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену.
32. CAR за будь-яким з пп. 1-31, який **відрізняється** тим, що додатково містить сигнальний пептид, розташований на N-кінці поліпептиду.
- 25 33. Химерний рецептор антигенів, який **відрізняється** тим, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 200, 201 і 207-216.
34. CAR за п. 1 або 32, який **відрізняється** тим, що є мультиспецифічним CAR, і при цьому необов'язково мультиспецифічний CAR є біспецифічним CAR.
35. CAR за будь-яким з пп. 1, 32 або 34, який **відрізняється** тим, що перше і друге sdAb є різними.
- 30 36. CAR за п. 1, який **відрізняється** тим, що є полівалентним BCMA CAR, і при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; і при цьому друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31.
- 35 37. Виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує CAR за будь-яким одним з пп. 1-36.
38. Вектор, який містить виділену нуклеїнову кислоту за п. 37.
- 40 39. Сконструйована імунна ефektorна клітина, яка містить CAR за будь-яким одним з пп. 1-36, виділену нуклеїнову кислоту за п. 37 або вектор за п. 38.
- 40 40. Сконструйована імунна ефektorна клітина за п. 39, яка **відрізняється** тим, що імунна ефektorна клітина є Т-клітиною.
41. Фармацевтична композиція, яка містить сконструйовану імунну ефektorну клітину за п. 39 або 40 і фармацевтично прийнятний носій.
- 45 42. Спосіб лікування раку у індивідуума, який включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції за п. 41.
43. Спосіб за п. 42, де рак являє собою множинну мієлому, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз.
44. Застосування ефективної кількості фармацевтичної композиції за п. 41 для лікування раку.
- 50 45. Застосування за п. 44, де рак являє собою множинну мієлому, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз.
46. Застосування ефективної кількості фармацевтичної композиції за п. 41 для отримання терапевтичного засобу для лікування раку.
- 55 47. Застосування за п. 46, де рак являє собою множинну мієлому, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз.



ФІГ. 1А



ФІГ. 1В



Фиг. 10

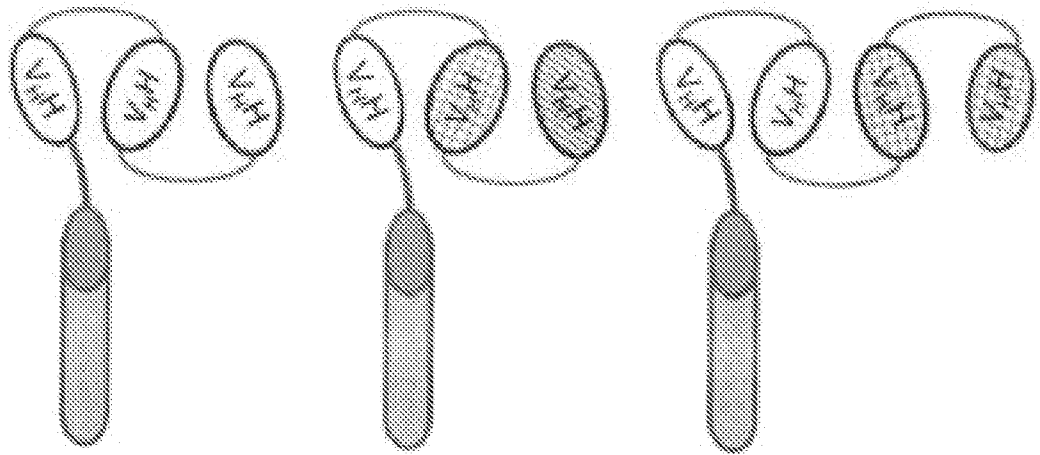


FIG. 1D

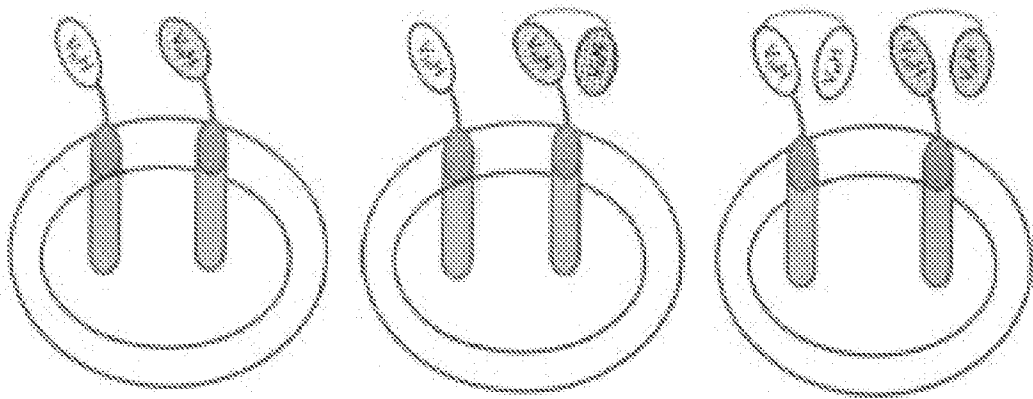
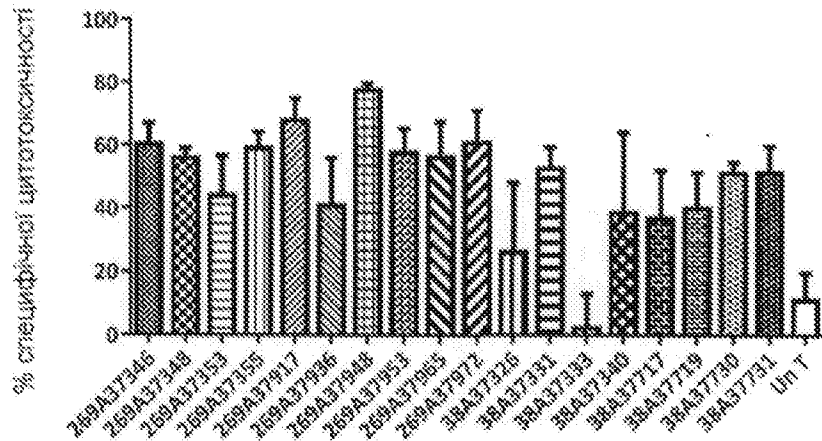


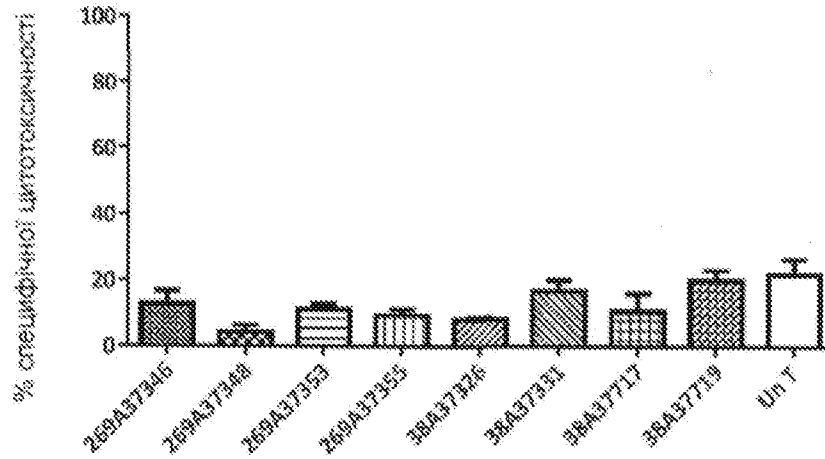
FIG. 1E

Цитотоксичність на RPMI8226.Luc.



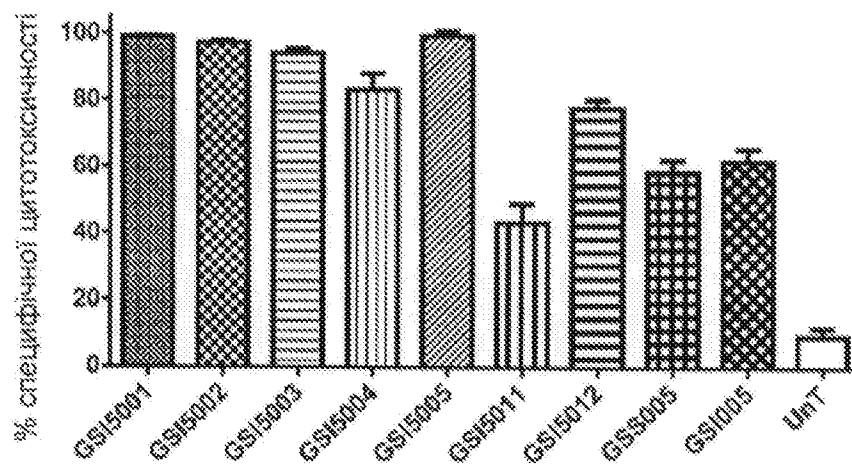
ФІГ. 2А

Цитотоксичність на U87MG.Luc.



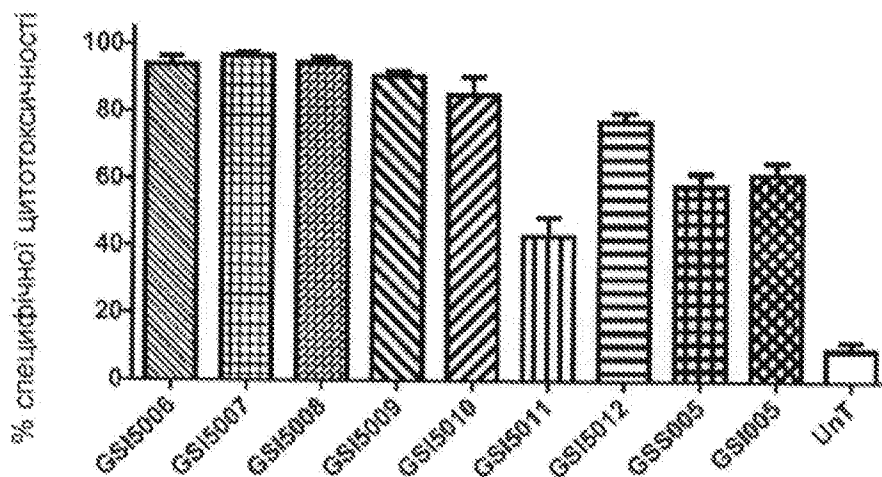
ФІГ. 2В

Цитотоксичність на RPMI8226. Luc.



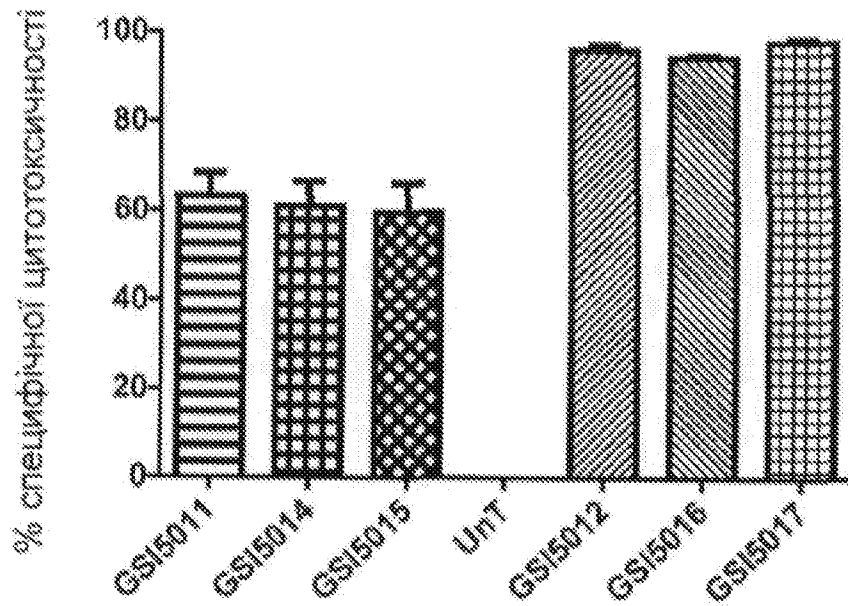
ФІГ. 3А

Цитотоксичність на RPMI8226. Luc.



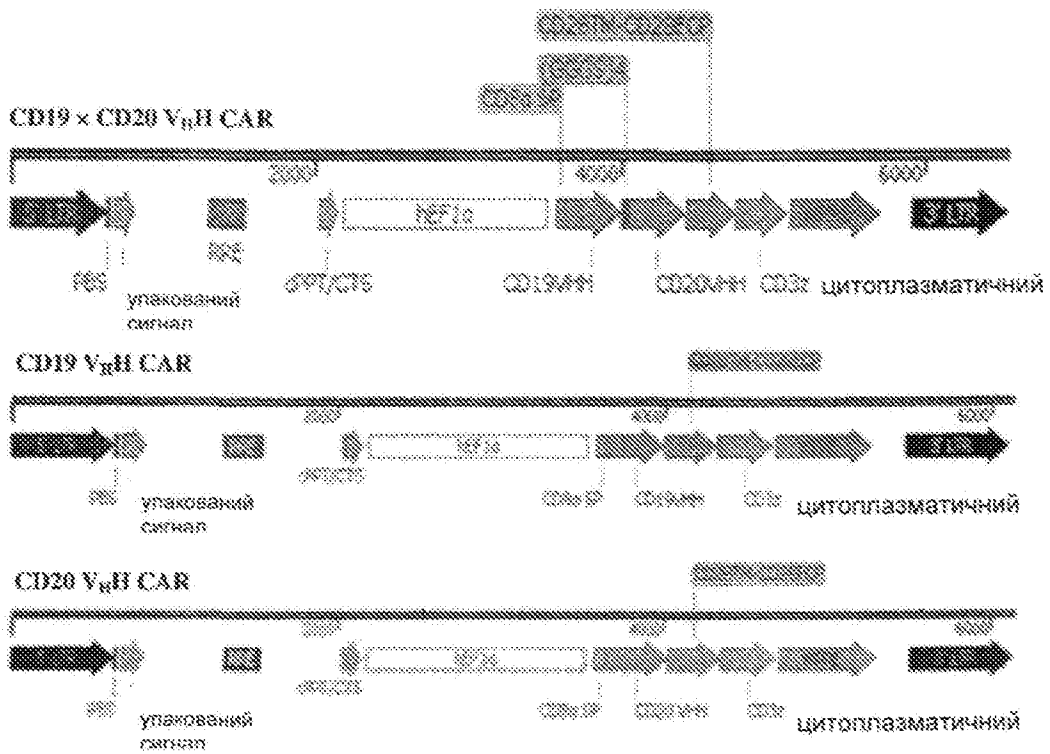
ФІГ. 3В

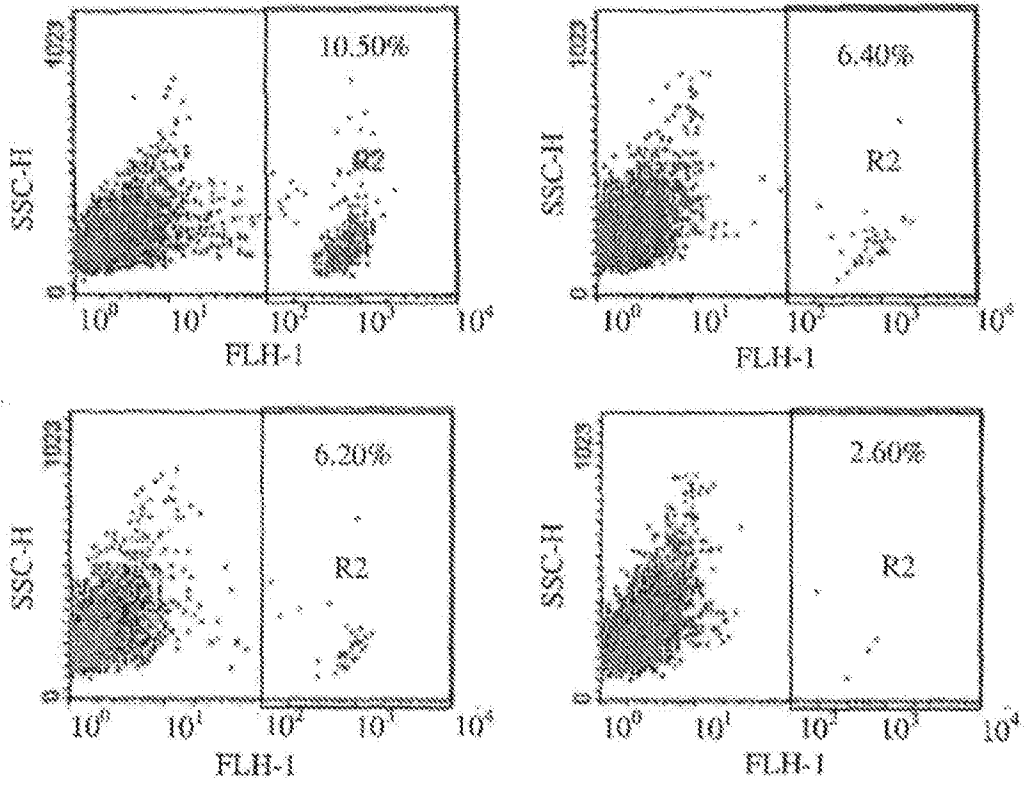
Цитотоксичність на RPMI8226. Luc.



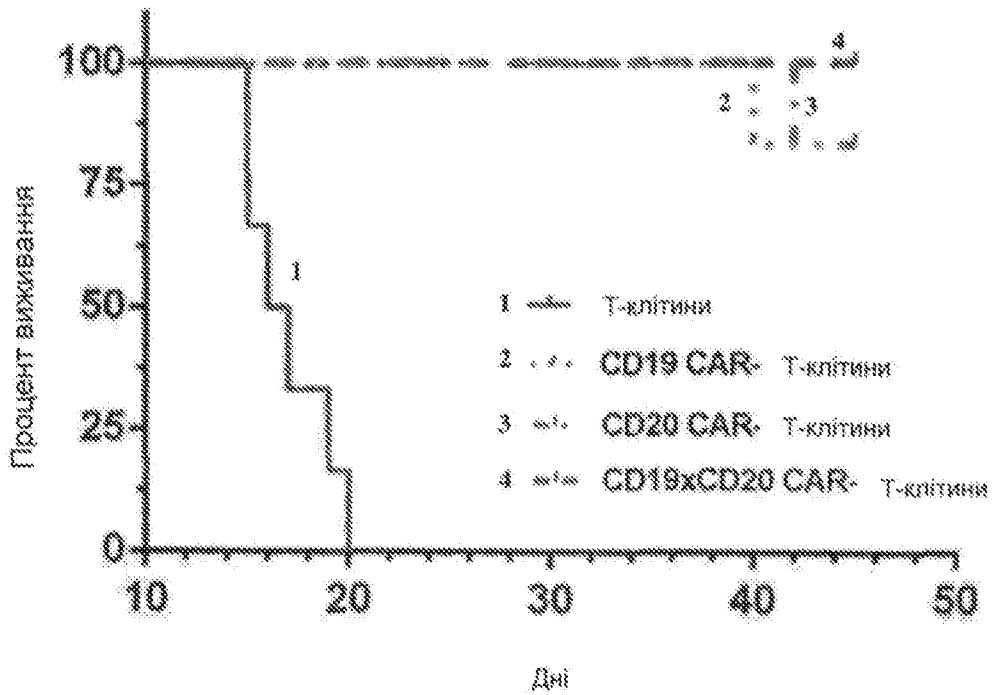
ФІГ. 4

ФІГ. 5



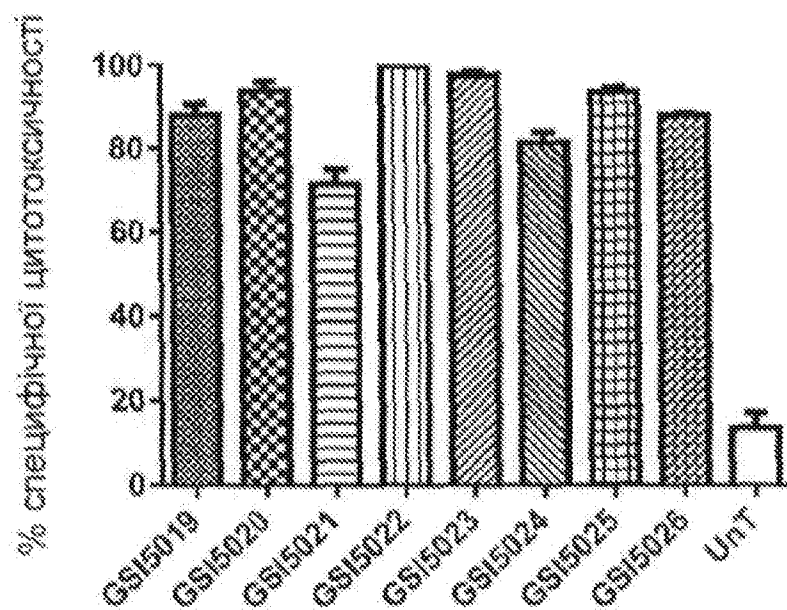


ФІГ. 6



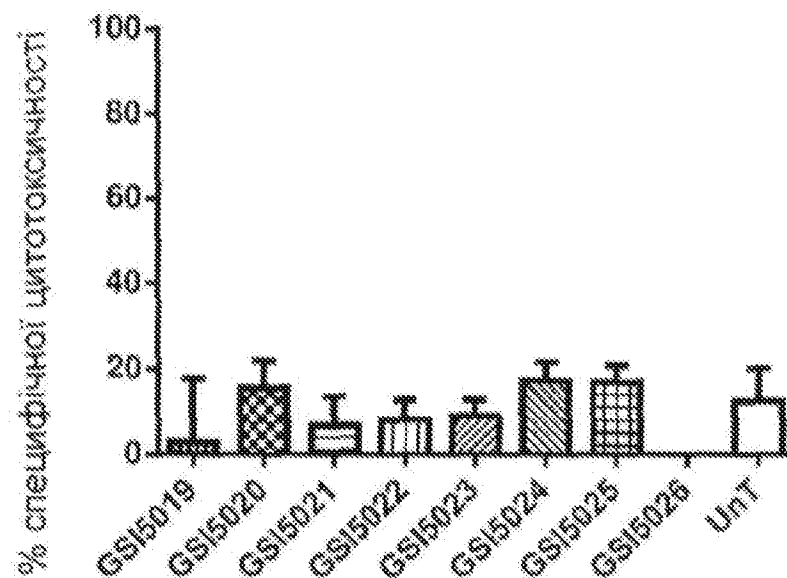
ФІГ. 7

Цитотоксичність на RPMI8266. Luc.



ФІГ. 8А

Цитотоксичність на U87MG.Luc.



ФІГ. 8В