

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392077** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.11.17

(51) Int. Cl. *A61K 35/17* (2015.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.02.02

(54) **САМОПОЛЯРИЗУЮЩИЕСЯ ИММУННЫЕ КЛЕТКИ**

(31) 63/144,860

(72) Изобретатель:

(32) 2021.02.02

**Кличински Майкл, Слоас Дэвид
Кристофер, Андерсон Николас (US)**

(33) US

(86) PCT/US2022/014936

(74) Представитель:

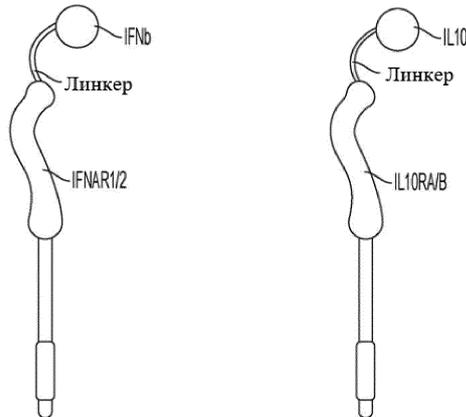
(87) WO 2022/169870 2022.08.11

**Джермакян Р.В., Угрюмов В.М.,
Гизатуллина Е.М., Строкова О.В.,
Костюшенкова М.Ю., Гизатуллин
Ш.Ф. (RU)**

(71) Заявитель:

**КАРИСМА ТЕРАПЬЮТИКС ИНК.
(US)**

(57) Настоящее изобретение относится к модифицированным иммунным клеткам, содержащим слитые белки, и способам применения и создания модифицированных иммунных клеток, содержащих слитые белки. Настоящее изобретение также относится к модифицированным иммунным клеткам, содержащим экзогенные цитокины и химерные антигенные рецепторы, и способам применения и создания указанных иммунных клеток.



202392077
A1

202392077
A1

САМОПОЛЯРИЗУЮЩИЕСЯ ИММУННЫЕ КЛЕТКИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет и преимущество по предварительной заявке на патент США № 63/144 860, поданной 02 февраля 2021 г., которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0000] Настоящая заявка содержит Перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и в полном объеме включен в данный документ посредством ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 27 января 2022 г., имеет название 2012851-0124_SL.txt и размер 569792 байт.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Макрофаги являются мощными модуляторами иммунного ответа и в общем случае могут принимать провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) фенотип. Точный баланс макрофагов M1/M2 важен для разрешения ответа организма на заболевание и повреждение, при этом в случае различных заболеваний наблюдается нарушение регуляции фенотипов M1/M2. Например, макрофаги в опухолевом микроокружении (ОМО) часто демонстрируют сдвиг в сторону фенотипа M2, который уберегает опухоль, тогда как макрофаги M1 в атеросклеротической ткани стимулируют образование бляшек.

[0003] Следовательно существует потребность в создании способа генетического контроля и/или поддержания поляризации M1/M2 сконструированных иммунных клеток для клеточной терапии.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Настоящее изобретение включает, помимо прочего, композиции, содержащие модифицированные иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты и/или дендритные клетки), содержащие экзогенные цитокины, и способы их получения. Настоящее изобретение также включает, помимо прочего, композиции, содержащие модифицированные иммунные клетки (например, стволовые

клетки, макрофаги, моноциты и/или дендритные клетки), содержащие слитые белки, и способы их получения.

[0005] В настоящем изобретении предложена система установления генетического контроля над фенотипом иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита и/или дендритной клетки) с использованием цитокиновой сигнализации. В настоящем изобретении предложена, помимо прочего, коэкспрессия провоспалительных (M1) или противовоспалительных (M2) стимулирующих экзогенных цитокинов с химерным антигенным рецептором (CAR) в иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците и/или дендритной клетке), что позволяет иммунной клетке вырабатывать большие количества экспрессируемого экзогенного цитокина. Кроме того, коэкспрессия провоспалительного (M1) стимулирующего экзогенного цитокина и CAR в иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците и/или дендритной клетке) позволяет иммунной клетке «самополяризоваться» в фенотип M1. Аналогично, коэкспрессия противовоспалительного (M2) стимулирующего экзогенного цитокина и CAR в иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците и/или дендритной клетке) позволяет иммунной клетке «самополяризоваться» в фенотип M2.

[0006] В настоящем изобретении также предложены, помимо прочего, слитые белки, в которых провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) стимулирующий цитокин непосредственно слит с одной из соответствующих рецепторных субъединиц так, что цитокин может внутримолекулярно связывать свой связанный рецептор и индуцировать последующую сигнализацию. В отличие от встречающихся в природе растворимых цитокинов, связанные цитокины по настоящему изобретению сконструированы только для стимуляции модифицированных иммунных клеток (например, стволовых клеток, макрофагов, моноцитов и/или дендритных клеток); непосредственное слияние с рецептором может предотвращать диффузию цитокинов от клеточной мембраны и может способствовать быстрой кинетике связывания вследствие высокой локальной концентрации. Следовательно, этот дизайн связанного слитого белка цитокин – цитокиновый рецептор может обеспечить конститутивный провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) стимулирующий сигнал для модифицированных иммунных клеток (например, стволовых клеток, макрофагов, моноцитов и/или дендритных клеток) с минимизацией риска цитотоксических эффектов для окружающих клеток.

[0007] В одном аспекте в настоящем изобретении предложена модифицированная иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор, при этом модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую

клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, а цитокин связывает цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления слитый белок является мембраносвязанным. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой гибкий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер.

[0008] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка дополнительно содержит химерный антигенный рецептор (CAR).

[0009] В некоторых вариантах осуществления слитый белок дополнительно содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит от N-конца к C-концу: сигнальный пептид, цитокин, линкер и цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 2a, таблицы 2b, таблицы 3a, таблицы 3b, таблицы 6, таблицы 8 или таблицы 9.

[0010] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена модифицированная иммунная клетка, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор, при этом модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, а цитокин связывает цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления слитый белок является мембраносвязанным. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой гибкий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер.

[0011] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка дополнительно содержит химерный антигенный рецептор (CAR).

[0012] В некоторых вариантах осуществления слитый белок дополнительно содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит от N-конца к C-концу: сигнальный пептид, цитокин, линкер и цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 11a или 11b. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 4a, таблицы 4b или таблицы 7. В некоторых

вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 5a или таблицы 5b. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из таблицы 8. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности линкера, выбранной из таблицы 8.

[0013] В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид представляет собой или содержит сигнальный пептид CD8a, IgG κ, PDGFR-β, интерферона типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферона типа II (IFN-γ), интерферона типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF, TGF-β, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6Rα, gp130, IL-12Rβ1, IL-12Rβ2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-Rα, CSF2-Rβ, IL-4Rα, IL-4Rα1, IL-2Rγс, IL-10R1, IL-10R2, IL-13Rα1, IL-18Rα, IL-18Rβ, CSF1-R, TGF-βR1 или TGF-βR2.

[0014] В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит провоспалительный цитокин. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит противовоспалительный цитокин. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферон типа II (IFN-γ), интерферон типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23 или GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF-β. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферон типа II (IFN-γ), интерферон типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF-β.

[0015] В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит рецептор провоспалительного цитокина. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит рецептор

противовоспалительного цитокина. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6R α , gp130, IL-12R β 1, IL-12R β 2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-R α или CSF2-R β . В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IL-4R α , IL-4R α 1, IL-2R γ c, IL-10R1, IL-10R2, IL-13R α 1, IL-18R α , IL-18R β , CSF1-R, TGF- β R1 или TGF- β R2. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6R α , gp130, IL-12R β 1, IL-12R β 2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-R α , CSF2-R β , IL-4R α , IL-4R α 1, IL-2R γ c, IL-10R1, IL-10R2, IL-13R α 1, IL-18R α , IL-18R β , CSF1-R, TGF- β R1 или TGF- β R2.

[0016] В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой или содержит линкер, выбранный из группы, состоящей из: линкера (G4S)_n, где n = 1–5 (**SEQ ID NO: 170**), линкера Уитлоу и линкера 26.

[0017] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена модифицированная иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержащий интерлейкин 10 (IL-10), линкер и рецептор интерлейкина-10 (IL10R). В другом аспекте в настоящем изобретении предложена модифицированная иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержащий интерферон бета (IFN β), линкер и рецептор интерферона- α/β (IFNAR).

[0018] В некоторых вариантах осуществления слитый белок является мембраносвязанным. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой гибкий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер.

[0019] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка дополнительно содержит химерный антигенный рецептор (CAR).

[0020] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая модифицированную иммунную клетку по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[0021] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена конструкция нуклеиновой кислоты, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержащий цитокин и цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих химерный антигенный рецептор (CAR).

[0022] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[0023] В другом аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения или предотвращения заболевания или расстройства у субъекта, включающий доставку субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

[0024] В другом аспекте в настоящем изобретении предложен способ модификации иммунной клетки, включающий доставку в иммунную клетку конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой гибкий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых вариантах осуществления доставка включает электропорацию или трансфекцию ДНК, мРНК или химически модифицированной мРНК. В некоторых вариантах осуществления доставка включает трансдукцию аденоассоциированным вирусным вектором (AAV), аденовирусным вектором или ретровирусным вектором. В некоторых вариантах осуществления ретровирусный вектор включает лентивирусный вектор или гамма-ретровирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления лентивирусный вектор упакован белком Vpr. В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор включает вектор Ad2 или вектор Ad5. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad5 включает аденовирусный вектор Ad5f35. В некоторых вариантах осуществления доставка включает доставку на основе транспозона или целевую интеграцию на основе CRISPR.

[0025] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена модифицированная иммунная клетка, содержащая экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR), при этом модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, а экзогенный цитокин представляет собой или содержит провоспалительный цитокин, противовоспалительный цитокин или хемоаттрактантный хемокин. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин

содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 2a, таблицы 2b, таблицы 6 или таблицы 8.

[0026] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена модифицированная иммунная клетка, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR), при этом модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, а экзогенный цитокин представляет собой или содержит провоспалительный цитокин, противовоспалительный цитокин или хемоаттрактантный хемокин. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин дополнительно содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 4a, таблицы 4b, таблицы 7 или таблицы 11b. В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 8.

[0027] В некоторых вариантах осуществления одна или более нуклеиновых кислот кодируют сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид представляет собой или содержит сигнальный пептид CD8a, IgG κ, PDGFR-β, интерферона типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферона типа II (IFN-γ), интерферона типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3, or IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF, TGF-β, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6Rα, gp130, IL-12Rβ1, IL-12Rβ2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-Rα, CSF2-Rβ, IL-4Rα, IL-4Rα1, IL-2Rγс, IL-10R1, IL-10R2, IL-13Rα1, IL-18Rα, IL-18Rβ, CSF1-R, TGF-βR1 или TGF-βR2.

[0028] В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферон типа II (IFN-γ), интерферон типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF, TGF-β, CCL19 или CXCL12. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит IFN-γ, IL-10, CCL19 или CXCL12.

[0029] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая модифицированную иммунную клетку по настоящему

изобретению, содержащую экзогенный цитокин и CAR. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[0030] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена конструкция нуклеиновой кислоты, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR).

[0031] В другом аспекте в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, конструкцию нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, содержащую одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и CAR. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[0032] В другом аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения или предотвращения заболевания или расстройства у субъекта, включающий доставку субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по настоящему изобретению, при этом фармацевтическая композиция содержит модифицированную иммунную клетку по настоящему изобретению, содержащую экзогенный цитокин и CAR, или конструкцию нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, содержащую одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и CAR.

[0033] В другом аспекте в настоящем изобретении предложен способ модификации иммунной клетки, включающий доставку в иммунную клетку конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых вариантах осуществления доставка включает электропорацию или трансфекцию ДНК, мРНК или химически модифицированной мРНК. В некоторых вариантах осуществления доставка включает трансдукцию аденоассоциированным вирусным вектором (AAV), аденовирусным вектором или ретровирусным вектором. В некоторых вариантах осуществления ретровирусный вектор включает лентивирусный вектор или гамма-ретровирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления лентивирусный вектор упакован белком Vpr. В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор включает вектор Ad2 или вектор Ad5. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad5 включает аденовирусный вектор Ad5f35. В некоторых вариантах осуществления доставка включает доставку на основе транспозона или целевую интеграцию на основе CRISPR.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0034] Графические материалы предназначены только для иллюстрации, а не для ограничения.

[0035] На **Фиг. 1** показаны типовые слитые белки, содержащие IFN- β и IFNAR1/2 и IL10 и IL10RA/B.

[0036] На **Фиг. 2** показан дизайн типовых слитых белков, содержащих сигнальный пептид, цитокин, линкер и цитокиновый рецептор, при этом цитокин связывает цитокиновый рецептор. На фигуре проиллюстрирована «(GGGGS) x » как SEQ ID NO: 175.

[0037] На **Фиг. 3А** и **Фиг. 3В** приведены иллюстрации типового способа по настоящему изобретению, включающего генную доставку конструкций, кодирующих слитый белок (и необязательно CAR, смотрите **Фиг. 3В**) в иммунную клетку (например, макрофаг), димеризацию слитого белка с эндогенным рецептором и поляризацию макрофага в провоспалительное (т. е. M1) состояние.

[0038] На **Фиг. 4А** и **Фиг. 4В** приведены иллюстрации типового способа по настоящему изобретению, включающего генную доставку конструкций, кодирующих слитый белок (и необязательно CAR, смотрите **Фиг. 4В**) в иммунную клетку (например, макрофаг), димеризацию слитого белка с эндогенным рецептором и поляризацию макрофага в противовоспалительное (т. е. M2) состояние.

[0039] На **Фиг. 5А** и **Фиг. 5В** показаны типовые конструкции, содержащие сигнальный пептид, FLAG-тег, цитокин, линкер, цитокиновый рецептор, пептид P2A и mCherry. На **Фиг. 5А** антитело связывает FLAG-тег, а на **Фиг. 5В** антитело связывает цитокин.

[0040] На **Фиг. 6А** и **Фиг. 6В** приведены типовые графики, иллюстрирующие жизнеспособность клеток НЕК293Т (**Фиг. 6А**) и поверхностную экспрессию слитых белков в клетках НЕК293Т (**Фиг. 6В**), трансфицированных плазмидной ДНК.

[0041] На **Фиг. 7** приведены типовые графики, иллюстрирующие корреляцию между выявлением FLAG-тега антителом и экспрессией mCherry в группах IFN β -IFNAR1 и IL4-IL13R α .

[0042] На **Фиг. 8** показаны типовые вестерн-блоты, иллюстрирующие экспрессию слитых белков в клетках НЕК293Т.

[0043] На **Фиг. 9** показана типовая конструкция, содержащая сигнальный пептид, FLAG-тег, цитокин, линкер, цитокиновый рецептор, пептид P2A и mCherry. На этой фигуре также проиллюстрировано антитело, которое связывает FLAG-тег.

[0044] На **Фиг. 10А** и **Фиг. 10В** приведены типовые графики, иллюстрирующие жизнеспособность макрофагов (**Фиг. 10А**) и поверхностную экспрессию слитых белков в макрофагах (**Фиг. 10В**), трансдуцированных VPX-лентивирусом, содержащим слитый белок.

[0045] На **Фиг. 11А** и **Фиг. 11В** приведены типовые графики, иллюстрирующие жизнеспособность, экспрессию P2A-mCherry и поверхностную экспрессию слитых белков в макрофагах, трансдуцированных VPX-лентивирусом, содержащим слитый белок.

[0046] На **Фиг. 12А** и **Фиг. 12В** приведены типовые графики, иллюстрирующие экспрессию провоспалительных (M1) и противовоспалительных (M2) маркеров из макрофагов, которые были трансдуцированы VPX-лентивирусом, содержащим слитый белок.

[0047] На **Фиг. 13** приведен типовой график, иллюстрирующий жизнеспособность макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0048] На **Фиг. 14** приведен типовой график, иллюстрирующий экспрессию CAR в макрофагах после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0049] На **Фиг. 15** приведен типовой график, иллюстрирующий уровни IFN- γ из макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0050] На **Фиг. 16** приведен типовой график, иллюстрирующий уровни IL-10 из макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0051] На **Фиг. 17** приведен типовой график, иллюстрирующий уровни CCL19 из макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0052] На **Фиг. 18** приведен типовой график, иллюстрирующий уровни CXCL12 из макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0053] На **Фиг. 19** приведены типовые графики, иллюстрирующие уровни провоспалительных (M1) маркеров CD80 и CD86 из макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

[0054] На **Фиг. 20** приведены типовые графики, иллюстрирующие уровни противовоспалительных (M2) маркеров CD163 и CD206 из макрофагов после трансфекции мРНК, кодирующей цитокины и CAR.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0055] Для того, чтобы настоящее изобретение было более понятным, сначала представлены определения некоторых терминов. Дополнительные определения для следующих терминов и других терминов изложены в описании. Публикации и другие справочные материалы, на которые даны ссылки в данном документе для описания предпосылок создания изобретения и предоставления дополнительных подробностей относительно его практического применения, включены в данный документ посредством ссылки.

[0056] В контексте данного документа форма единственного числа относится к одному или более чем одному (т. е. к по меньшей мере одному) грамматическому объекту описания. В качестве примера, «элемент» означает один элемент или более одного элемента.

[0057] *Приблизительно или около:* В контексте данного документа термин «приблизительно» или «около» применительно к одному или большему значениям, представляющим интерес, относится к значению, которое является сходным с установленным эталонным значением. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» или «около» относится к диапазону значений, которые попадают в пределы 25 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % или менее в любую сторону (больше или меньше) от установленного эталонного значения, если не указано иное или иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда такое число превышало бы 100 % от возможного значения).

[0058] *Активация:* В контексте данного документа термин «активация» относится к состоянию клетки, например, моноцита, макрофага или дендритной клетки, в достаточной степени стимулированной для индукции выявляемой клеточной пролиферации или стимулированной для осуществления своей эффекторной функции. Активация также может быть связана с индуцированной выработкой цитокинов, фагоцитозом, передачей клеточных сигналов, уничтожением клеток-мишеней и/или процессингом и презентацией антигена.

[0059] *Активированные моноциты/макрофаги/дендритные клетки:* В контексте данного документа термин «активированные моноциты/макрофаги/дендритные клетки» относится, помимо прочего, к моноцитам/макрофагам/дендритным клеткам, которые

подвергаются клеточному делению или проявляют эффекторную функцию. Термин «активированные моноциты/макрофаги/дендритные клетки» относится, помимо прочего, к клеткам, которые выполняют эффекторную функцию или осуществляют какую-либо активность, не наблюдаемую в состоянии покоя, включая фагоцитоз, секрецию цитокинов, пролиферацию, изменение генной экспрессии, метаболические изменения и другие функции.

[0060] *Агент*: В контексте данного документа термин «агент» (или «биологический агент» или «терапевтический агент») относится к молекуле, которая может экспрессироваться, высвобождаться, секретироваться или доставляться к мишени модифицированной клеткой, описанной в данном документе. Агент включает, помимо прочего, нуклеиновую кислоту, антибиотик, противовоспалительный агент, антитело или его фрагменты, агент-антитело или его фрагменты, фактор роста, цитокин, фермент, белок (например, ингибитор РНКазы), пептид, слитый белок, синтетическую молекулу, органическую молекулу (например, низкомолекулярное вещество), углевод, липид, гормон, микросому, их производное или вариант и любые их комбинации. Агент может связываться с любым фрагментом клетки, таким как рецептор, антигенная детерминанта или другой сайт связывания, присутствующий на мишени или клетке-мишени. Агент может диффундировать или транспортироваться в клетку, где он может действовать внутриклеточно.

[0061] *Антитело*: В контексте данного документа термин «антитело» относится к полипептиду, который содержит элементы канонической последовательности иммуноглобулина, достаточные для обеспечения специфического связывания с конкретным антигеном-мишенью. Как известно в данной области техники, интактные антитела, вырабатываемые в естественных условиях, представляют собой тетрамерные агенты с молекулярной массой приблизительно 150 кДа, содержащие два идентичных полипептида тяжелой цепи (около 50 кДа каждый) и два идентичных полипептида легкой цепи (около 25 кДа каждый), которые связываются друг с другом в то, что обычно называют «Y-образной» структурой. Каждая тяжелая цепь содержит по меньшей мере четыре домена (каждый длиной около 110 аминокислот) – аминоконцевой вариабельный (VH) домен (расположенный на концах Y-структуры), за которым следуют три константных домена: CH1, CH2 и карбоксиконцевой CH3 (расположенный у основания стебля Y). Короткая область, известная как «переключатель», соединяет вариабельную и константную области тяжелой цепи. «Шарнирная область» соединяет домены CH2 и CH3 с остальной частью антитела. Две дисульфидные связи в этой шарнирной области соединяют два полипептида

тяжелой цепи друг с другом в интактном антителе. Каждая легкая цепь содержит два домена: аминоконцевой вариабельный (VL) домен, за которым следует карбоксиконцевой константный (CL) домен, отделенные друг от друга другим «переключателем». Интактные тетрамеры антител содержат два димера тяжелой и легкой цепей, в которых тяжелая и легкая цепи связаны друг с другом одинарной дисульфидной связью; две другие дисульфидные связи соединяют шарнирные области тяжелой цепи друг с другом, так что димеры соединяются друг с другом и образуется тетрамер. Природные антитела также являются гликозилированными, обычно в домене CH2. Каждый домен в природном антителе имеет структуру, характеризующуюся «иммуноглобулиновой складкой», образованной из двух бета-слоев (например, 3-, 4- или 5-цепочечных слоев), упакованных друг против друга в сжатой антипараллельной бета-бочке. Каждый вариабельный домен содержит три гипервариабельные петли, известные как «определяющие комплементарность области» (CDR1, CDR2 и CDR3), и четыре в некоторой степени инвариантных «каркасных» области (FR1, FR2, FR3 и FR4). При упаковке природных антител FR-области образуют бета-слои, которые обеспечивают структурный каркас для доменов, а области петель CDR как тяжелой, так и легкой цепей объединяются в трехмерном пространстве, так что они создают один гипервариабельный антигенсвязывающий сайт, расположенный в вершине Y-структуры. Fc-область встречающихся в природе антител связывается с элементами системы комплемента, а также с рецепторами на эффекторных клетках, включая, например, эффекторные клетки, которые опосредуют цитотоксичность. Аффинность и/или другие атрибуты связывания Fc-областей с Fc-рецепторами можно модулировать посредством гликозилирования или другой модификации. В некоторых вариантах осуществления антитела, полученные и/или применяемые в соответствии с настоящим изобретением (например, в качестве компонента CAR), содержат гликозилированные Fc-домены, включая Fc-домены с модифицированным или сконструированным гликозилированием. В некоторых вариантах осуществления любой полипептид или комплекс полипептидов, который включает достаточное количество последовательностей домена иммуноглобулина, встречающихся в природных антителах, может называться и/или применяться как «антитело», независимо от того, получен ли такой полипептид естественным путем (например, создан организмом в ответ на антиген), или получен с помощью рекомбинантной инженерии, химического синтеза или другой искусственной системы или технологии. В некоторых вариантах осуществления антитело является поликлональным. В некоторых вариантах осуществления антитело является моноклональным. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет последовательности константной области, характерные для антител мыши, кролика,

примата или человека. В некоторых вариантах осуществления элементы последовательности антител являются гуманизированными, приматизированными, химерными и т. д., как известно в данной области техники. Кроме того, термин «антитело» в контексте данного документа может относиться, в соответствующих вариантах осуществления (если не указано иное или не ясно из контекста), к любым из известных в данной области техники или разработанных конструкций или форматов для использования структурных и функциональных особенностей антитела в альтернативном представлении. Например, в некоторых вариантах осуществления антитело, используемое в соответствии с настоящим изобретением, находится в формате, выбранном, помимо прочего, из интактных антител IgA, IgG, IgE или IgM; би- или мультиспецифических антител (например, Zybodyes® и т. д.); фрагментов антител, таких как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты и выделенные CDR или их наборы; одноцепочечных FVS; слитых полипептид-Fc; однодоменных антител (например, однодоменные антитела акулы, такие как IgNAR или их фрагменты); антител верблюжьих; замаскированных антител (например, Probodyes®); малых модульных иммунофармацевтических препаратов («SMIP™»); одноцепочечных или тандемных диател (TandAb®); VHH; Anticalin®; Nanobodies®; минител; BiTE®; белков анкириновых повторов или DARPIN®; Avimer®; DART; ТКР-подобных антител; Adnectin®; Affilin®; транс-тел (Trans-bodyes®); Affibodies®; TrimerX®; микропротеинов; Fynomers®, Centyrins® и KALBITOR®. В некоторых вариантах осуществления антитело может не содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана), которую оно имело бы, если бы было получено естественным образом. В некоторых вариантах осуществления антитело может содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана, полезную нагрузку [например, выявляемый фрагмент, терапевтический фрагмент, каталитический фрагмент и т. д.] или другую боковую группу [например, полиэтиленгликоль и т. д.]).

[0062] *Агент-антитело:* В контексте данного документа термин «агент-антитело» относится к агенту, который специфически связывается с конкретным антигеном. В некоторых вариантах осуществления этот термин охватывает любой полипептид или полипептидный комплекс, который содержит структурные элементы иммуноглобулина, достаточные для обеспечения специфического связывания. Типовые агенты-антитела включают, но не ограничиваются этим, моноклональные антитела или поликлональные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело может содержать одну или более последовательностей константной области, характерных для антител мыши, кролика, примата или человека. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело может

содержать один или более элементов последовательности, которые являются гуманизированными, приматизированными, химерными и т. д., как известно в данной области техники. Во многих вариантах осуществления термин «агент-антитело» используют для обозначения одной или более известных в данной области техники или разработанных конструкций или форматов для использования структурных и функциональных особенностей антитела в альтернативном представлении. Например, в некоторых вариантах осуществления агент-антитело, используемый в соответствии с настоящим изобретением, находится в формате, выбранном, помимо прочего, из интактных антител IgA, IgG, IgE или IgM; би- или мультиспецифических антител (например, Zybodyes® и т. д.); фрагментов антител, таких как Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fd'-фрагменты, Fd-фрагменты и выделенные CDR или их наборы; одноцепочечных FVS; слитых полипептид-Fc; однодоменных антител (например, однодоменные антитела акулы, такие как IgNAR или их фрагменты); антител верблюжьих; замаскированных антител (например, Probodyes®); малых модульных иммунофармацевтических препаратов («SMIPTM»); одноцепочечных или тандемных диател (TandAb®); VHH; Anticalin®; Nanobodies®; минител; BiTE®; белков анкириновых повторов или DARPIN®; Avimer®; DART; ТКР-подобных антител; Adnectin®; Affilin®; транс-тел (Trans-bodyes®); Affibodyes®; TrimerX®; микропротеинов; Fynomers®, Centyrins® и KALBITOR®. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело может не содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана), которую оно имело бы, если бы было получено естественным образом. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело может содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана, полезную нагрузку [например, выявляемый фрагмент, терапевтический фрагмент, каталитический фрагмент и т. д.] или другую боковую группу [например, полиэтиленгликоль и т. д.]). Во многих вариантах осуществления агент-антитело представляет собой или содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит один или более структурных элементов, известных специалистам в данной области техники как определяющая комплементарность область (CDR); в некоторых вариантах осуществления агент-антитело представляет собой или содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит по меньшей мере одну CDR (например, по меньшей мере одну CDR тяжелой цепи и/или по меньшей мере одну CDR легкой цепи), которая практически идентична CDR, находящейся в эталонном антителе. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том смысле, что она либо идентична по последовательности, либо содержит от 1 до 5 аминокислотных замен по сравнению с эталонной CDR. В

некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том, что она имеет по меньшей мере 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или 100 % идентичности последовательности с эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том, что она имеет по меньшей мере 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или 100 % идентичности последовательности с эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том, что по меньшей мере одна аминокислота во включенной CDR удалена, добавлена или заменена по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том, что по меньшей мере 1–5 аминокислот во включенной CDR удалены, добавлены или заменены по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том, что по меньшей мере одна аминокислота во включенной CDR заменена по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления включенная CDR практически идентична эталонной CDR в том, что по меньшей мере 1–5 аминокислот во включенной CDR удалены, добавлены или заменены по сравнению с эталонной CDR, но включенная CDR имеет аминокислотную последовательность, которая в остальном идентична эталонной CDR. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело представляет собой или содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит структурные элементы, известные специалистам в данной области техники как переменный домен иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело представляет собой полипептидный белок, имеющий связывающий домен, гомологичный или в значительной степени гомологичный иммуноглобулин-связывающему домену. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело не представляет собой или не содержит полипептид, аминокислотная последовательность которого содержит структурные элементы, известные специалистам в данной области техники как переменный домен иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления агент-антитело может представлять собой или содержать молекулу или композицию, которая не содержит структурные элементы иммуноглобулина (например, рецептор или другую встречающуюся в природе молекулу, которая содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий домен).

[0063] *Фрагмент антитела:* В контексте данного документа термин «фрагмент антитела» относится к части интактного антитела и относится к антигенным определяющим переменным областям интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются этим, фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv, линейные антитела, антитела scFv и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител, и их человеческие и гуманизированные версии.

[0064] *Тяжелая цепь антитела:* В контексте данного документа термин «тяжелая цепь антитела» относится к большей из двух типов полипептидных цепей, присутствующих во всех молекулах антител в их встречающихся в природе конформациях.

[0065] *Легкая цепь антитела:* В контексте данного документа термин «легкая цепь антитела» относится к меньшей из двух типов полипептидных цепей, присутствующих во всех молекулах антител в их встречающихся в природе конформациях.

[0066] *Синтетическое антитело:* В контексте данного документа термин «синтетическое антитело» относится к антителу, полученному с использованием технологии рекомбинантных ДНК, такому как, например, антитело, экспрессируемое бактериофагом, как описано в данном документе. Этот термин также следует толковать как обозначение антитела, которое было создано путем синтеза молекулы ДНК, кодирующей антитело, и при этом данная молекула ДНК экспрессирует белок антитела или аминокислотную последовательность, определяющую антитело, при этом ДНК или аминокислотная последовательность были получены с использованием технологии синтетических ДНК или аминокислотных последовательностей, которая доступна и хорошо известна в данной области техники.

[0067] *Антиген:* В контексте данного документа термин «антиген» или «Ag» относится к молекуле, которая способна провоцировать иммунный ответ. Такой иммунный ответ может предполагать либо выработку антител, либо активацию специфических иммунологически-компетентных клеток, либо и то, и другое. Специалисту в данной области техники будет понятно, что любая макромолекула, включая практически все белки или пептиды, может служить в качестве антигена. Более того, антигены могут быть получены из рекомбинантной или геномной ДНК. Специалист в данной области техники поймет, что любая ДНК, которая содержит нуклеотидные последовательности или частичную нуклеотидную последовательность, кодирующую белок, который вызывает иммунный ответ, кодирует «антиген», согласно применению этого термина в данном документе. Более того, специалисту в данной области техники будет понятно, что антиген не обязательно должен кодироваться исключительно полноразмерной нуклеотидной

последовательностью гена. Совершенно очевидно, что настоящее изобретение включает, но не ограничивается этим, применение частичных нуклеотидных последовательностей более чем одного гена и что эти нуклеотидные последовательности расположены в различных комбинациях, чтобы вызывать необходимый иммунный ответ. Более того, специалисту в данной области техники будет понятно, что антиген совсем не обязательно должен кодироваться «геном». Совершенно очевидно, что антиген может быть синтезирован или может быть получен из биологического образца. Такой биологический образец может включать, но не ограничивается этим, образец ткани, образец опухоли, клетку или биологическую жидкость.

[0068] *Противоопухолевый эффект:* В контексте данного документа термин «противоопухолевый эффект» относится к биологическому эффекту, который может проявляться в виде уменьшения объема опухоли, уменьшения количества опухолевых клеток, уменьшения количества метастаз, увеличения продолжительности жизни или облегчения различных физиологических симптомов, связанных с раковым состоянием. «Противоопухолевый эффект» также может проявляться в способности пептидов, полинуклеотидов, клеток и антител по изобретению в первую очередь предотвращать появление опухоли.

[0069] *Аутологичный:* В контексте данного документа термин «аутологичный» относится к любому материалу, полученному от индивида, которому его будут повторно вводить позже.

[0070] *Аллогенный:* В контексте данного документа термин «аллогенный» относится к любому материалу (например, популяции клеток), полученному от другого животного того же вида.

[0071] *Ксеногенный:* В контексте данного документа термин «ксеногенный» относится к любому материалу (например, популяции клеток), полученному от животного другого вида.

[0072] *Рак:* В контексте данного документа термин «рак» относится к заболеванию, характеризующемуся быстрым и неконтролируемым ростом аберрантных клеток. Раковые клетки могут распространяться локально или через кровотоки и лимфатическую систему в другие части тела. Примеры различных раковых заболеваний включают, но не ограничиваются этим, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, рак шейки матки, рак кожи, рак поджелудочной железы, колоректальный рак, рак почки, рак печени, рак головного мозга, лимфому, лейкоз, рак легкого и т. п. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой медуллярную карциному щитовидной железы.

[0073] *Консервативные модификации последовательности:* В контексте данного документа термин «консервативные модификации последовательности» относится к аминокислотным модификациям, которые существенно не влияют или не изменяют характеристики связывания антитела, содержащего аминокислотную последовательность. Такие консервативные модификации включают аминокислотные замены, добавления и делеции. Модификации можно вносить в антитело, совместимое с различными вариантами осуществления, стандартными методами, известными в данной области техники, такими как сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез. Консервативные аминокислотные замены представляют собой замены аминокислотного остатка аминокислотным остатком, имеющим аналогичную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих аналогичные боковые цепи, были определены в данной области техники. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Таким образом, один или более аминокислотных остатков в областях CDR антитела можно заменять другими аминокислотными остатками из того же семейства боковых цепей, а измененное антитело можно исследовать в отношении способности связывать антигены, используя описанные в данном документе функциональные анализы.

[0074] *Костимулирующий лиганд:* В контексте данного документа термин «костимулирующий лиганд» относится к молекуле на антигенпрезентирующей клетке (например, АПК, дендритной клетке, В-клетке и т. п.), которая специфически связывает родственную костимулирующую молекулу на моноците/макрофаге/дендритной клетке, тем самым обеспечивая сигнал, который опосредует ответ моноцита/макрофага/дендритной клетки, включая, но не ограничиваясь этим, пролиферацию, активацию, дифференцировку и т. п. Костимулирующий лиганд может включать, но не ограничивается этим, CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, индуцируемый костимулирующий лиганд (ICOS-L), молекулу межклеточной адгезии (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептор лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, агонист или антитело, которое связывает рецептор лиганда Toll, и лиганд, который специфически связывается с B7-H3. Костимулирующий лиганд также включает, помимо

прочего, антитело, которое специфически связывается с костимулирующей молекулой, присутствующей на моноците/макрофаге/дендритной клетке, такой как, но не ограничиваясь этим, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, ассоциированный с функцией лимфоцитов антиген-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 и лиганд, который специфически связывается с CD83.

[0075] *Цитотоксический:* В контексте данного документа термин «цитотоксический» или «цитотоксичность» относится к уничтожению или повреждению клеток. В одном варианте осуществления происходит повышение цитотоксичности метаболически усиленных клеток, т. е. повышение цитолитической активности макрофагов.

[0076] *Эффективное количество:* В контексте данного документа термины «эффективное количество» и «терапевтически эффективное количество» являются взаимозаменяемыми и относятся к количеству соединения, состава, материала или композиции, описанных в данном документе, эффективному для достижения конкретного биологического результата или обеспечивающему производственную, терапевтическую или профилактическую пользу. Такие результаты могут включать, но не ограничиваются этим, противоопухолевую активность, определяемую любым способом, подходящим в данной области техники.

[0077] *Эффекторная функция:* В контексте данного документа термин «эффекторная функция» или «эффекторная активность» относится к специфической активности, осуществляемой иммунной клеткой в ответ на стимуляцию иммунной клетки. Например, эффекторная функция макрофагов состоит в поглощении и расщеплении клеточного дебриса, инородных веществ, микробов, раковых клеток и других нездоровых клеток путем фагоцитоза.

[0078] *Кодирование:* В контексте данного документа «кодирование» относится к неотъемлемому свойству специальных последовательностей нуклеотидов в полинуклеотиде, таком как ген, кДНК или мРНК, чтобы служить в качестве матриц для синтеза других полимеров и макромолекул в биологических процессах, имеющих определенную последовательность нуклеотидов (т. е. рРНК, тРНК и мРНК) или определенную последовательность аминокислот и вытекающие из этого биологические свойства. Таким образом, ген кодирует белок, если транскрипция и трансляция мРНК, соответствующей этому гену, приводят к выработке белка в клетке или другой биологической системе. Как кодирующая цепь, нуклеотидная последовательность которой идентична последовательности мРНК и обычно представлена в перечнях

последовательностей, так и некодирующая цепь, используемая в качестве матрицы для транскрипции гена или кДНК, могут рассматриваться как кодирующие белок или другой продукт этого гена или кДНК.

[0079] *Эндогенный:* В контексте данного документа термин «эндогенный» относится к любому материалу, полученному из конкретного организма, клетки, ткани или системы или вырабатываемому внутри них.

[0080] *Экзогенный:* В контексте данного документа термин «экзогенный» относится к любому материалу, введенному из или полученному вне конкретного организма, клетки, ткани или системы.

[0081] *Размножение:* В контексте данного документа термин «размножение» относится к увеличению количества, например, увеличению количества клеток, например, моноцитов, макрофагов и/или дендритных клеток. В одном варианте осуществления количество моноцитов, макрофагов или дендритных клеток, размноженных *ex vivo*, увеличивается по сравнению с количеством, первоначально присутствующим в культуре. В другом варианте осуществления количество моноцитов, макрофагов или дендритных клеток, размноженных *ex vivo*, увеличивается по сравнению с другими типами клеток в культуре. В некоторых вариантах осуществления может происходить размножение *in vivo*. В контексте данного документа термин «*ex vivo*» относится к клеткам, которые были удалены из живого организма (например, человека) и размножены вне организма (например, в чашке для культивирования, пробирке или биореакторе).

[0082] *Экспрессия:* В контексте данного документа термин «экспрессия» последовательности нуклеиновой кислоты относится к образованию любого генного продукта из последовательности нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления генный продукт может представлять собой транскрипт. В некоторых вариантах осуществления генный продукт может представлять собой полипептид. В некоторых вариантах осуществления экспрессия последовательности нуклеиновой кислоты включает одно или более из следующего: (1) получение матрицы РНК из последовательности ДНК (*например*, путем транскрипции); (2) процессинг транскрипта РНК (*например*, путем сплайсинга, редактирования, образования 5'-кэп-структуры и/или образования 3'-концевой структуры); (3) трансляция РНК в полипептид или белок; и/или (4) посттрансляционная модификация полипептида или белка.

[0083] *Экспрессионный вектор:* В контексте данного документа термин «экспрессионный вектор» относится к вектору, содержащему рекомбинантный полинуклеотид, который содержит регулирующие экспрессию последовательности,

функционально связанные с нуклеотидной последовательностью, которая подлежит экспрессии. Экспрессионный вектор содержит достаточно цис-действующих элементов для экспрессии; другие элементы для экспрессии могут быть обеспечены клеткой-хозяином или в *in vitro* системе экспрессии. Экспрессионные векторы включают все известные в данной области техники, такие как космиды, плазмиды (например, оголенные или содержащиеся в липосомах) и вирусы (например, лентивирусы, ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы).

[0084] *Фрагмент:* В контексте данного документа термины «фрагмент» или «часть» относятся к структуре, которая содержит дискретную часть целой структуры, но в которой отсутствуют один или более фрагментов, присутствующих во целой структуре. В некоторых вариантах осуществления фрагмент состоит из такой дискретной части. В некоторых вариантах осуществления фрагмент состоит из или содержит характерный структурный элемент или часть, присутствующие в целой структуре. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 или более мономерных единиц (например, нуклеиновых кислот), находящихся в целом нуклеотиде. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидный фрагмент содержит или состоит из по меньшей мере около 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или более мономерных единиц (например, остатков), находящихся в целом нуклеотиде. В некоторых вариантах осуществления весь материал или объект может называться «родительским» по отношению к «целой структуре».

[0085] *Гомология:* В контексте данного документа термин «гомология» относится к общему сходству между полимерными молекулами, например между молекулами нуклеиновой кислоты (например, молекулами ДНК и/или молекулами РНК), и/или между молекулами полипептидов. В некоторых вариантах осуществления полимерные молекулы считаются «гомологичными» друг другу, если их последовательности по меньшей мере на 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % или 99 % идентичны. В некоторых вариантах осуществления полимерные молекулы считаются «гомологичными» друг другу, если их последовательности меньшей мере на 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % или 99 % схожи (например, содержащие остатки с схожими химическими свойствами в

соответствующих положениях). Как должно быть понятно специалистам в данной области техники, доступно множество алгоритмов, позволяющих сравнивать последовательности с целью определения степени их гомологии, в том числе путем допуска наличия гэпов определенной длины в одной последовательности относительно другой при рассмотрении того, какие остатки «соответствуют» друг к другу в разных последовательностях. Например, расчет процента гомологии между двумя последовательностями нуклеиновой кислоты можно проводить путем выравнивания двух последовательностей с целью оптимального сравнения (например, можно вносить гэпы в одну или обе из первой и второй последовательностей нуклеиновых кислот для оптимального выравнивания, а несоответствующие последовательности можно игнорировать в целях сравнения). В определенных вариантах осуществления длина последовательности, выровненной в целях сравнения, составляет по меньшей мере 30 %, по меньшей мере 40 %, по меньшей мере 50 %, по меньшей мере 60 %, по меньшей мере 70 %, по меньшей мере 80 %, по меньшей мере 90 %, по меньшей мере 95 % или по сути 100 % длины эталонной последовательности. Затем сравнивают нуклеотиды в соответствующих нуклеотидных позициях. Когда позиция в первой последовательности занята тем же нуклеотидом, что и в соответствующей позиции во второй последовательности, то молекулы идентичны в этой позиции; когда позиция в первой последовательности занята схожим нуклеотидом, что и в соответствующей позиции во второй последовательности, то молекулы схожи в этой позиции. Процент гомологии между двумя последовательностями является функцией количества идентичных и схожих позиций, общих для последовательностей, с учетом количества гэпов и длины каждого гэпа, которые необходимо внести для оптимального выравнивания двух последовательностей.

[0086] *Идентичность:* В контексте данного документа термин «идентичность» относится к идентичности последовательности субъединиц между двумя полимерными молекулами, в частности между двумя аминокислотными молекулами, например, между двумя полипептидными молекулами. Когда две аминокислотные последовательности имеют одинаковые остатки в одинаковых позициях; например, если позиция в каждой из двух полипептидных молекул занята аргинином, то они идентичны в этой позиции. Идентичность или степень, в которой две аминокислотные последовательности имеют одни и те же остатки в одних и тех же позициях в выравнивании, часто выражают в процентах. Идентичность между двумя аминокислотными последовательностями является прямой функцией количества совпадающих или идентичных позиций; например, если половина (например, пять позиций в полимере длиной десять аминокислот) позиций в двух последовательностях идентичны, две последовательности идентичны на 50 %; если 90 %

позиций (например, 9 из 10) совпадают или идентичны, две аминокислотные последовательности идентичны на 90 %.

[0087] *Существенная идентичность:* В контексте данного документа «существенная идентичность» относится к сравнению между аминокислотными последовательностями или последовательностями нуклеиновых кислот. Как будет понятно специалистам в данной области техники, две последовательности, как правило, считаются «существенно идентичными», если они содержат идентичные остатки в соответствующих позициях. Как хорошо известно в данной области техники, последовательности аминокислот или нуклеиновых кислот можно сравнивать, используя любой из множества алгоритмов, в том числе доступных в коммерческих компьютерных программах, таких как BLASTN для нуклеотидных последовательностей и BLASTP, BLAST с гэпами и PSI-BLAST для аминокислотных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления две последовательности считаются существенно идентичными, если по меньшей мере, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или более их соответствующих остатков идентичны на релевантном участке остатков. В некоторых вариантах осуществления релевантный участок представляет собой полную последовательность. В некоторых вариантах осуществления релевантный участок составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 или более остатков. В контексте CDR ссылка на «существенную идентичность» обычно относится к CDR, имеющей аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80 %, предпочтительно по меньшей мере на 85 %, по меньшей мере на 90 %, по меньшей мере на 95 %, по меньшей мере на 98 % или по меньшей мере на 99 % идентичную эталонной CDR.

[0088] *Иммунная клетка:* В контексте данного документа термин «иммунная клетка» относится к клетке, которая участвует в иммунном ответе, например, в стимуляции иммунного ответа. Примеры иммунных клеток включают, но не ограничиваются этим, макрофаги, моноциты, дендритные клетки, нейтрофилы, эозинофилы, тучные клетки, тромбоциты, крупные гранулярные лимфоциты, клетки Лангерганса, естественные клетки-киллеры (NK), Т-лимфоциты или В-лимфоциты. Источник иммунных клеток (например, макрофагов, моноцитов или дендритных клеток) может быть получен от субъекта.

[0089] *Иммунный ответ:* В контексте данного документа термин «иммунный ответ» относится к клеточному и/или системному ответу на антиген, который возникает,

когда лимфоциты идентифицируют антигенные молекулы как чужеродные и индуцируют образование антител и/или активируют лимфоциты для удаления антигена.

[0090] *Иммуноглобулин:* В контексте данного документа термин «иммуноглобулин» или «Ig» относится к классу белков, которые функционируют как антитела. Антитела, экспрессируемые В-клетками, иногда называют BCR (В-клеточным рецептором) или антигенным рецептором. В этот класс белков входят пять членов: IgA, IgG, IgM, IgD и IgE. IgA является первичным антителом, которое присутствует в выделениях организма, таких как слюна, слезы, грудное молоко, желудочно-кишечные выделения и слизистые выделения дыхательных и мочеполовых путей. IgG является наиболее распространенным циркулирующим антителом. IgM является основным иммуноглобулином, вырабатываемым при первичном иммунном ответе у большинства субъектов. Это наиболее эффективный иммуноглобулин в агглютинации, фиксации комплемента и других ответах антител, и он важен для защиты от бактерий и вирусов. IgD представляет собой иммуноглобулин, который не имеет известной функции антитела, но может служить рецептором антигена. IgE представляет собой иммуноглобулин, который опосредует немедленную гиперчувствительность, вызывая высвобождение медиаторов из тучных клеток и базофилов при воздействии аллергена.

[0091] *Выделенный:* В контексте данного документа термин «выделенный» относится к чему-то измененному или удаленному из естественной среды. Например, нуклеиновая кислота или пептид, естественным образом присутствующие в организме животного, не являются «выделенными», однако эти же нуклеиновая кислота или пептид, частично или полностью отделенные от сосуществующих материалов их естественной среды, являются «выделенными». Выделенная нуклеиновая кислота или белок могут существовать в практически очищенной форме или могут существовать в чужеродной среде, такой как, например, клетка-хозяин.

[0092] *Модифицированный:* В контексте данного документа термин «модифицированный» относится к измененным состоянию или структуре молекулы или клетки по изобретению. Молекулы можно изменять многими способами, в том числе химически, структурно и функционально. Клетки можно модифицировать путем внесения нуклеиновых кислот.

[0093] *Модуляция:* В контексте данного документа термин «модуляция» относится к опосредованию выявляемого повышения или снижения уровня ответа и/или изменения характера ответа у субъекта по сравнению с уровнем и/или характером ответа у субъекта в отсутствие лечения или соединения и/или по сравнению с уровнем и/или характером ответа

у идентичного во всем остальном, но не получавшего лечения, субъекта. Этот термин включает вмешательство в и/или воздействие на нативный сигнал или ответ, что таким образом опосредует полезный терапевтический ответ у субъекта, предпочтительно человека.

[0094] *Нуклеиновая кислота*: В контексте данного документа термин «нуклеиновая кислота» относится к полимеру, состоящему по меньшей мере из трех нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота включает ДНК. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота включает РНК. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота является одноцепочечной. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота является двухцепочечной. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит как одноцепочечные, так и двухцепочечные части. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит остов, содержащий одну или более фосфодиэфирных связей. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит остов, содержащий как фосфодиэфирные, так и нефосфодиэфирные связи. Например, в некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать остов, который содержит одну или более тиофосфатных или 5'-N-фосфорамидитных связей и/или одну или более пептидных связей, например, как в «пептидной нуклеиновой кислоте». В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит один или более или все природные остатки (например, аденин, цитозин, дезоксиаденозин, дезоксицитидин, дезоксигуанозин, дезокситимидин, гуанин, тимин, урацил). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит один или более или все неприродные остатки. В некоторых вариантах осуществления неприродный остаток содержит нуклеозидный аналог (например, 2-аминоаденозин, 2-тиотимидин, инозин, пирролопиримидин, 3-метиладенозин, 5-метилцитидин, C-5 пропинилцитидин, C-5 пропинилцитидин-уридин, 2-аминоаденозин, C5-бромурин, C5-фторуридин, C5-йодоуридин, C5-пропинилуридин, C5-пропинилцитидин, C5-метилцитидин, 2-аминоаденозин, 7-дезааденозин, 7-дезагуанозин, 8-оксоаденозин, 8-оксогуанозин, 0(6)-метилгуанин, 2-тиоцитидин, метилированные основания, интеркалированные основания и их комбинации). В некоторых вариантах осуществления неприродный остаток содержит один или более модифицированных сахаров (например, 2'-фторрибозу, рибозу, 2'-дезоксирибозу, арабинозу и гексозу) по сравнению с природными остатками. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота имеет нуклеотидную последовательность, которая кодирует функциональный генный продукт, такой как РНК или полипептид. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота имеет нуклеотидную последовательность, содержащую один или

более интронов. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может быть получена путем выделения из природного источника, ферментативного синтеза (например, путем полимеризации на основе комплементарной матрицы, например, *in vivo* или *in vitro*, репродукции в рекомбинантной клетке или системе, или химического синтеза. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота имеет длину по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 или более остатков.

[0095] *Функционально связанный:* В контексте данного документа термин «функционально связанный» относится к функциональной связи между, например, регуляторной последовательностью и последовательностью гетерологичной нуклеиновой кислоты, приводящей к экспрессии последней. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты является функционально связанной со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты находится в функциональной взаимосвязи со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, промотор является функционально связанным с кодирующей последовательностью, если промотор влияет на транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности. Как правило, функционально связанные последовательности ДНК являются смежными и, при необходимости для соединения двух кодирующих белок областей, в одной рамке считывания.

[0096] *Сверхэкспрессируемый опухолевый антиген:* В контексте данного документа термин «сверхэкспрессируемый» опухолевый антиген или «сверхэкспрессия» опухолевого антигена относится к аномальному уровню экспрессии опухолевого антигена в клетке из пораженного участка, такого как солидная опухоль в определенных ткани или органе пациента, по сравнению с уровнем экспрессии в нормальной клетке из этих ткани или органа. Пациентов с солидными опухолями или гемобластозами, характеризующимися сверхэкспрессией опухолевого антигена, можно определить с помощью стандартных анализов, известных в данной области техники.

[0097] *Полинуклеотид:* В контексте данного документа термин «полинуклеотид» относится к цепи нуклеотидов. Кроме того, нуклеиновые кислоты представляют собой полимеры нуклеотидов. Таким образом, в контексте данного документа нуклеиновые кислоты и полинуклеотиды являются взаимозаменяемыми. Специалисту в данной области техники известно, что нуклеиновые кислоты представляют собой полинуклеотиды, которые можно гидролизовать в мономерные «нуклеотиды». Мономерные нуклеотиды

можно гидролизовать до нуклеозидов. В контексте данного документа полинуклеотиды включают, но не ограничиваются этим, все последовательности нуклеиновых кислот, которые получены любыми способами, доступными в данной области техники, включая, без ограничения, рекомбинантные способы, т. е. клонирование последовательностей нуклеиновых кислот из рекомбинантной библиотеки или клеточного генома, с использованием обычных технологий клонирования, ПЦР™ и т. п., а также синтетические способы.

[0098] *Полипептид:* В контексте данного документа термин «полипептид» относится к любой полимерной цепи остатков (например, аминокислот), которые обычно связаны пептидными связями. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая встречается в природе. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая не встречается в природе. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет аминокислотную последовательность, которая сконструирована таким образом, что она сконструирована и/или получена посредством действий человека. В некоторых вариантах осуществления полипептид может включать или состоять из природных аминокислот, неприродных аминокислот или и тех, и других. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать или состоять только из природных аминокислот или только из неприродных аминокислот. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать D-аминокислоты, L-аминокислоты или и те, и другие. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать только D-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать только L-аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления полипептид может содержать одну или более боковых групп или другие модификации, например, модификацию или присоединение к одной или более боковым цепям аминокислот, на N-конце полипептида, на C-конце полипептида или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления такие боковые группы или модификации могут быть выбраны из группы, состоящей из ацетилирования, амидирования, липидирования, метилирования, пэгирования и т. д., включая их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептид может быть циклическим и/или может содержать циклическую часть. В некоторых вариантах осуществления полипептид не является циклическим и/или не содержит никаких циклических частей. В некоторых вариантах осуществления полипептид является линейным. В некоторых вариантах осуществления полипептид может представлять собой сшитый полипептид или содержать его. В некоторых вариантах осуществления термин «полипептид» может быть добавлен к названию эталонного полипептида, активности или структуры; в таких случаях

он используется в данном документе для обозначения полипептидов, которые обладают соответствующей активностью или структурой и, таким образом, могут рассматриваться как члены того же класса или семейства полипептидов. В случае каждого такого класса в данном описании представлены и/или известны специалистам в данной области техники типовые полипептиды в пределах класса, аминокислотные последовательности и/или функции которых являются известными; в некоторых вариантах осуществления такие типовые полипептиды являются эталонными полипептидами для класса или семейства полипептидов. В некоторых вариантах осуществления член класса или семейства полипептидов демонстрирует значительную гомологию или идентичность последовательности, имеет общий мотив последовательности (например, характерный элемент последовательности) и/или общую активность (в некоторых вариантах осуществления — на сопоставимом уровне или в указанном диапазоне) с эталонным полипептидом этого класса; в некоторых вариантах осуществления — со всеми полипептидами в пределах класса). Например, в некоторых вариантах осуществления полипептид демонстрирует общую степень гомологии или идентичности последовательности с эталонным полипептидом, которая составляет по меньшей мере около 30–40 %, а часто превышает около 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или более и/или содержит по меньшей мере одну область (например, консервативную область, которая в некоторых вариантах осуществления может представлять собой или содержать элемент характерной последовательности), которая демонстрирует очень высокую идентичность последовательности, часто более 90 % или даже 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %. Такая консервативная область обычно включает по меньшей мере 3–4, а часто до 20 или более аминокислот; в некоторых вариантах осуществления консервативная область включает по меньшей мере один участок из по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более смежных аминокислот. В некоторых вариантах осуществления применимый полипептид может содержать или состоять из фрагмента родительского полипептида. В некоторых вариантах осуществления применимый полипептид, который может содержать или состоять из множества фрагментов, каждый из которых находится в одном родительском полипептиде в ином пространственном упорядочении относительно другого, чем в представляющем интерес полипептиде (например, фрагменты, которые непосредственно связаны в родительском, могут быть пространственно разделены в представляющем интерес полипептиде или наоборот, и/или фрагменты могут присутствовать в представляющем интерес полипептиде в другом порядке, чем в родительском), таким образом, представляющий интерес полипептид является производным своего родительского полипептида.

[0099] *Белок:* В контексте данного документа термин «белок» относится к полипептиду (т. е. цепочке из по меньшей мере двух аминокислот, связанных друг с другом пептидными связями). Белки могут содержать фрагменты, отличные от аминокислот (*например*, могут представлять собой гликопротеины, протеогликаны и т. д.), и/или могут быть иным образом обработаны или модифицированы. Специалистам в данной области техники будет понятно, что «белок» может представлять собой полную полипептидную цепь, вырабатываемую клеткой (с сигнальной последовательностью или без нее), или может представлять собой ее характерную часть. Специалистам в данной области техники будет понятно, что белок иногда может содержать более одной полипептидной цепи, например, связанной одной или более дисульфидными связями или ассоциированной другим образом. Полипептиды могут содержать L-аминокислоты, D-аминокислоты или и то, и другое, и могут содержать любую из множества модификаций или аналогов аминокислот, известных в данной области техники. Применимые модификации включают, например, концевое ацетилирование, амидирование, метилирование и т. д. В некоторых вариантах осуществления белки могут содержать природные аминокислоты, неприродные аминокислоты, синтетические аминокислоты и их комбинации. Термин «пептид» в общем случае используют для обозначения полипептида, имеющего длину менее чем около 100 аминокислот, менее чем около 50 аминокислот, менее чем 20 аминокислот или менее чем 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления белки представляют собой антитела, фрагменты антител, их биологически активные части и/или их характерные части.

[0100] *Путь передачи сигнала:* В контексте данного документа термин «путь передачи сигнала» относится к биохимической взаимосвязи между различными молекулами передачи сигналов, которые играют роль в передаче сигнала от одной части клетки к другой части клетки. Выражение «рецептор клеточной поверхности» включает молекулы и комплексы молекул, способные принимать сигнал и передавать его через плазматическую мембрану клетки.

[0101] *Одноцепочечные антитела:* В контексте данного документа термин «одноцепочечные антитела» относится к антителам, полученным с помощью технологий рекомбинантных ДНК, в которых фрагменты тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина связаны с Fv-областью через сконструированный участок аминокислот. Известны различные способы получения одноцепочечных антител, включая описанные в патенте США № 4694778; Bird (1988) Science 242:423-442; Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Ward et al. (1989) Nature 334:544-54; Skerra et al. (1988) Science 242:1038-1041.

[0102] *Специфически связывает:* В контексте данного документа термин «специфически связывает» в отношении антигенсвязывающего домена, такого как агент-антитело, относится к антигенсвязывающему домену или антителу, которое распознает специфический антиген, но практически не распознает или не связывает другие молекулы в образце. Например, антигенсвязывающий домен или агент-антитело, который специфически связывается с антигеном одного вида, также может связываться с этим антигеном от одного или более видов. Но такая межвидовая реактивность сама по себе не изменяет классификацию антигенсвязывающего домена или агента-антитела как специфического. В другом примере антигенсвязывающий домен или агент-антитело, которое специфически связывается с антигеном, может также связываться с разными аллельными формами антигена. Однако такая перекрестная реактивность сама по себе не меняет классификации антигенсвязывающего домена или агента-антитела как специфического. В некоторых случаях термины «специфическое связывание» или «специфически связывается» можно использовать в отношении взаимодействия антигенсвязывающего домена или агента-антитела, белка или пептида со вторым химическим веществом, что означает, что взаимодействие зависит от присутствия конкретной структуры (например, антигенной детерминанты или эпитопа) химического вещества; например, антигенсвязывающий домен или агент-антитело распознает и связывается с конкретной структурой белка, а не с белками в целом. Если антигенсвязывающий домен или агент-антитело являются специфическими в отношении эпитопа «А», присутствие молекулы, содержащей эпитоп А (или свободного, немеченого А), в реакции, содержащей меченый «А» и антигенсвязывающий домен или агент-антитело, будет уменьшить количество меченого А, связанного с антителом.

[0103] *Стимуляция:* В контексте данного документа термин «стимуляция» относится к первичной реакции, индуцированной связыванием стимулирующей молекулы (например, комплекса FcR, комплекса TLR или комплекса TCR/CD3), например, с ее родственным лигандом, с опосредованием, таким образом, события передачи сигнала, такого как, но не ограничиваясь этим, передача сигнала через машинерию Fc-рецептора или через синтетический CAR. Стимуляция может опосредовать измененную экспрессию определенных молекул, такую как подавление TGF-бета и/или реорганизацию структур цитоскелета и т. п. В контексте данного документа термин «стимулирующая молекула» относится к молекуле моноцита, макрофага или дендритной клетки, которая специфически связывается с родственным стимулирующим лигандом, присутствующим на антигенпрезентирующей клетке. В некоторых вариантах осуществления стимулирующая молекула содержит внеклеточный домен FcR, содержащий CD64 (FcγRI), CD32a (FcγRIIa),

CD32b (FcγRIIb), CD32c, CD16a (FcγRIIIa), CD16b (FcγRIIIb), FcεRI, FcεRII, FcαRI (CD89) или домен CD40. В некоторых вариантах осуществления стимулирующая молекула содержит внеклеточный домен TLR, содержащий домен TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 или TLR9. В контексте данного документа термин «стимулирующий лиганд» относится к лиганду, который при наличии на антигенпрезентирующей клетке (например, аAPC, макрофаге, дендритной клетке, В-клетке и т. п.) или опухолевой клетке может специфически связываться с когнатным партнером по связыванию (называемым в данном документе «стимулирующей молекулой») на моноците, макрофаге или дендритной клетке, тем самым опосредуя ответ иммунной клетки, включая, но не ограничиваясь этим, активацию, инициацию иммунного ответа, пролиферация и т. п. Стимулирующие лиганды хорошо известны в данной области техники и включают, *но не ограничиваются этим*, лиганд Toll-подобного рецептора (TLR), антитело к толл-подобному рецептору, агонист и антитело к моноцитарному/макрофагальному рецептору. Кроме того, цитокины, такие как интерферон-гамма, являются мощными стимуляторами макрофагов.

[0104] *Субъект:* В контексте данного документа термин «субъект» относится к организму, например, млекопитающему (например, человеку, отличному от человека млекопитающему, отличному от человека примату, примату, лабораторному животному, мышши, крысе, хомяку, песчанке, кошке или собаке). В некоторых вариантах осуществления субъект-человек является взрослым, подростком или ребенком. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает заболеванием, расстройством или состоянием, например, заболеванием, расстройством или состоянием, которое можно лечить, как предложено в данном документе, например раком или опухолью, перечисленными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления субъект подвержен заболеванию, расстройству или состоянию; в некоторых вариантах осуществления субъект предрасположен и/или демонстрирует повышенный риск (по сравнению со средним риском, наблюдаемым у контрольного субъекта или популяции) развития заболевания, расстройства или состояния. В некоторых вариантах осуществления у субъекта проявляются один или более симптомов заболевания, расстройства или состояния. В некоторых вариантах осуществления у субъекта не наблюдается конкретного симптома (например, клинического проявления заболевания) или характеристики заболевания, расстройства или состояния. В некоторых вариантах осуществления у субъекта не проявляется никаких симптомов или характеристик заболевания, расстройства или состояния. В некоторых вариантах осуществления субъектом является пациент. В некоторых вариантах осуществления субъектом является индивид, которому поставлен диагноз и/или назначена терапия.

[0105] *По существу очищенный:* В контексте данного документа термин «по существу очищенный», например, применительно к клетке, относится к клетке, которая по существу не содержит других типов клеток. По существу очищенная клетка также относится к клетке, которая была отделена от других типов клеток, с которыми она обычно связана в своем естественном состоянии. В некоторых случаях популяция по существу очищенных клеток относится к гомогенной популяции клеток. В других случаях этот термин относится просто к клеткам, которые были отделены от клеток, с которыми они естественным образом связаны в своем естественном состоянии. В некоторых вариантах осуществления клетки культивируют *in vitro*. В других вариантах осуществления клетки не культивируют *in vitro*.

[0106] *Мишень:* В контексте данного документа термин «мишень» относится к клетке, ткани, органу или участку в организме, которые являются объектом предложенных способов, систем и/или композиций, например, клетке, ткани, органу или участку в организме, которые нуждаются в лечении, или предпочтительно связан, например, с антителом (или его фрагментом) или CAR.

[0107] *Сайт-мишень:* В контексте данного документа термин «сайт-мишень» или «последовательность-мишень» относится к последовательности геномной нуклеиновой кислоты, которая определяет часть нуклеиновой кислоты, с которой связывающая молекула может специфически связываться в условиях, достаточных для возникновения связывания.

[0108] *T-клеточный рецептор:* В контексте данного документа термин «T-клеточный рецептор» или «ТКР» относится к комплексу мембранных белков, которые участвуют в активации T-клеток в ответ на презентацию антигена. ТКР отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости. ТКР содержит гетеродимер альфа- (α) и бета- (β) цепи, хотя в некоторых клетках ТКР содержит гамма- и дельта- (γ/δ) цепи. ТКР могут существовать в альфа/бета и гамма/дельта формах, которые структурно схожи, но имеют различные анатомические локализации и функции. Каждая цепь содержит два внеклеточных домена, переменный и константный домен. В некоторых вариантах осуществления ТКР может быть модифицирован на любой клетке, содержащей ТКР, включая, например, хелперную T-клетку, цитотоксическую T-клетку, T-клетку памяти, регуляторную T-клетку, естественную T-клетку-киллер и гамма-дельта T-клетку..

[0109] *Терапевтический:* В контексте данного документа термин «терапевтический» относится к лечению и/или профилактике. Терапевтический эффект достигается путем подавления, ремиссии или устранения болезненного состояния.

[0110] *Трансфицированный*: В контексте данного документа термин «трансфицированный», или «трансформированный», или «трансдуцированный» относится к процессу, посредством которого экзогенную нуклеиновую кислоту переносят или вносят в клетку-хозяина. «Трансфицированная», или «трансформированная», или «трансдуцированная» клетка представляет собой клетку, которая была трансфицирована, трансформирована или трансдуцирована экзогенной нуклеиновой кислотой. Клетка включает первичную клетку субъекта и ее потомство.

[0111] *Лечить*: В контексте данного документа термин «лечить», «лечение» или «процесс лечения» относится к частичному или полному облегчению, улучшению, отсрочке наступления, ингибированию, предотвращению, облегчению и/или снижению частоты и/или тяжести одного или более симптомов или признаков заболевания, расстройства и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления лечение может быть назначено субъекту, у которого нет симптомов или признаков заболевания, расстройства и/или состояния (например, может быть профилактическим). В некоторых вариантах осуществления лечение может быть назначено субъекту, у которого проявляются только ранние или легкие симптомы или признаки заболевания, расстройства и/или патологического состояния, например, с целью снижения риска развития патологии, ассоциированной с заболеванием, расстройством и/или патологическим состоянием. В некоторых вариантах осуществления лечение может быть назначено субъекту, у которого проявляются установленные, тяжелые и/или поздние признаки заболевания, расстройства или состояния. В некоторых вариантах осуществления лечение может включать введение в иммунную клетку (например, моноцит, макрофаг или дендритную клетку) модулятора пути, активируемого *in vitro* транскрибируемой мРНК, или приведение иммунной клетки в контакт с ним.

[0112] *Опухоль*: В контексте данного документа термин «опухоль» относится к аномальному росту клеток или ткани. В некоторых вариантах осуществления опухоль может содержать клетки, которые являются предраковыми (например, доброкачественными), злокачественными, предметатическими, метастатическими и/или неметастатическими. В некоторых вариантах осуществления опухоль связана с раком или является его проявлением. В некоторых вариантах осуществления опухоль может быть дисперсной опухолью или жидкой опухолью. В некоторых вариантах осуществления опухоль может представлять собой солидную опухоль.

[0113] *Вектор*: В контексте данного документа термин «вектор» относится к композиции вещества, которая содержит выделенную нуклеиновую кислоту и которую

можно использовать для доставки выделенной нуклеиновой кислоты внутрь клетки. Многочисленные векторы известны в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, линейные полинуклеотиды, полинуклеотиды, связанные с ионными или амфифильными соединениями, плазмиды и вирусы. Таким образом, термин «вектор» включает автономно реплицирующуюся плазмиду или вирус. Термин также следует толковать как включающий неплазмидные и невирусные соединения, которые облегчают перенос нуклеиновой кислоты в клетки, такие как, например, соединения полилизина, липосомы и т. п. К примерам вирусных векторов относятся, но не ограничиваются этим, аденовирусные векторы, векторы на основе аденоассоциированного вируса, ретровирусные векторы, лентивирусные векторы и т. п.

[0114] В данном описании различные аспекты изобретения могут быть представлены в формате диапазонов. Следует понимать, что описание в формате диапазонов предназначено исключительно для удобства и краткости, и его не следует воспринимать как негибкое ограничение объема изобретения. Соответственно, следует считать, что описание диапазона явным образом раскрывает все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в этом диапазоне. Например, описание диапазона, такого как от 1 до 6, следует рассматривать как явным образом раскрывающее поддиапазоны, такие как от 1 до 3, от 1 до 4, от 1 до 5, от 2 до 4, от 2 до 6, от 3 до 6 и т. д., а также отдельные числа в этом диапазоне, например, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 и 6. Это применимо независимо от ширины диапазона.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0115] Макрофаги являются мощными модуляторами иммунного ответа и в общем случае могут принимать провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) фенотип. Точный баланс макрофагов M1/M2 важен при ответе организма на заболевание и повреждение, при этом в случае различных заболеваний наблюдается нарушение регуляции фенотипов M1/M2. Например, макрофаги в опухолевом микроокружении (ОМО) часто демонстрируют сдвиг в сторону фенотипа M2, который уберегает опухоль, тогда как макрофаги M1 в атеросклеротической ткани, как правило, стимулируют прогрессирование образования бляшек. Следовательно, способы, которые позволяют осуществлять внешний контроль фенотипа макрофагов, являются перспективными терапевтическими стратегиями, либо за счет реполяризации существующих макрофагов, либо за счет доставки макрофагов необходимого фенотипа (например, доставки макрофагов M1 в ОМО или макрофагов M2 в атеросклеротическую ткань).

[0116] В природных системах цитокины используются как мощные регуляторы фенотипа M1/M2 и, следовательно, управляемые сигнальные сети цитокинов представляют привлекательную систему для конструирования макрофагов. Однако цитокины имеют плейотрофные эффекты на различные иммунные клетки, что ставит задачи избежания нецелевой сигнализации и исключительной активации представляющих интерес макрофагов. Кроме того, неконтролируемая экспрессия цитокинов может приводить к синдрому высвобождения цитокинов и другим вредоносным побочным эффектам. Чтобы контролировать фенотип иммунной клетки (например, макрофага, моноцита или дендритной клетки) за счет использования эндогенных сигнальных путей цитокинов, идеальной технологией было бы (i) уточнение необходимого фенотипа M1/M2, (ii) поддержание этого фенотипа в болезненном микроокружении и (iii) обеспечение минимальных цитотоксических нецелевых эффектов. В настоящем изобретении предложена, помимо прочего, такая технология.

Иммунные клетки

[0117] В настоящем изобретение, помимо прочего, предложены модифицированные иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), содержащие экзогенный цитокин, описанный в данном документе, и химерный антигенный рецептор (CAR), описанный в данном документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один CAR содержит: (a) внеклеточный домен (например, внеклеточный домен, описанный в данном документе), (b) трансмембранный домен (например, трансмембранный домен, описанный в данном документе) и (c) внутриклеточный домен (например, внутриклеточный домен, описанный в данном документе).

[0118] В настоящем изобретение, помимо прочего, также предложены модифицированные иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), содержащие по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержит: цитокин ((например, цитокин, описанный в данном документе), линкер (например, линкер, описанный в данном документе) и цитокиновый рецептор (например, цитокиновый рецептор, описанный в данном документе), при э том цитокин связывает цитокиновый рецептор (смотрите **Фиг. 3А** и **4А**). В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка дополнительно содержит по меньшей мере один химерный антигенный рецептор (CAR) (смотрите **Фиг. 3В** и **4В**).

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один CAR содержит: (а) внеклеточный домен (например, внеклеточный домен, описанный в данном документе), (b) трансмембранный домен (например, трансмембранный домен, описанный в данном документе) и (с) внутриклеточный домен (например, внутриклеточный домен, описанный в данном документе).

[0119] В некоторых вариантах осуществления популяция иммунных клеток, описанных в данном документе, включает стволовые клетки, моноциты, макрофаги, дендритные клетки и/или их предшественников. В некоторых вариантах осуществления популяция иммунных клеток включает по существу очищенную популяцию стволовых клеток, моноцитов, макрофагов или дендритных клеток или линию клеток.

[0120] В некоторых вариантах осуществления происходит активация иммунной клетки, например, иммунная клетка демонстрирует повышенную выработку цитокинов, выработку хемокинов, фагоцитоз, клеточную сигнализацию, уничтожение клеток-мишеней и/или презентацию антигена, например, по сравнению с неактивной клеткой. В некоторых вариантах осуществления активированная иммунная клетка демонстрирует изменения в экспрессии генов, например, индукцию экспрессии провоспалительных генов (например, одного, двух, трех, четырех, пяти, шести или семи из TNF, IL-12, IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF или IL-1), например, по сравнению с неактивной клеткой. В некоторых вариантах осуществления активированная иммунная клетка демонстрирует изменения в экспрессии генов, например индукцию экспрессии противовоспалительных генов, например, по сравнению с неактивной клеткой. В некоторых вариантах осуществления активированные иммунные клетки подвергаются клеточному делению. В некоторых вариантах осуществления целевая эффекторная активность иммунной клетки усиливается за счет ингибирования активности CD47 и/или SIRP α . Активность CD47 и/или SIRP α можно ингибировать путем обработки иммунной клетки антителом против CD47 или против SIRP α или любым способом, известным специалистам в данной области техники

[0121] В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) получают (например, выделяют) от субъекта. Иммунные клетки могут быть аутологичными или полученными от аллогенных или универсальных доноров. Клетки могут быть получены из ряда источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, ткань селезенки, пуповину, опухоли и/или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, такие как эмбриональные стволовые клетки (ЭСК). В некоторых вариантах осуществления клетки могут быть получены из единицы крови,

взятой у субъекта, с использованием любого количества методов разделения, известных специалистам в данной области техники, таких как разделение в фиколл. В некоторых вариантах осуществления клетки из циркулирующей крови субъекта получают путем афереза или лейкоафереза. Клетки, собранные с помощью афереза, можно промывать для удаления фракции плазмы и ресуспендировать в различных буферах (например, в фосфатно-солевом буфере (ФСБ)) или культуральных средах. В некоторых вариантах осуществления обогащение иммунных клеток (например, моноцитами) включает прилипание к пластику. В некоторых вариантах осуществления после обогащения дифференцировка иммунных клеток (например, моноцитов) включает стимуляцию GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления для обогащения используют композицию, содержащую клетки крови (например, моноциты, лимфоциты, тромбоциты, плазму и/или эритроциты), такую как композиция для лейкоафереза (например, лейкопак). В некоторых вариантах осуществления композиция для лейкоафереза (например, лейкопак) содержит образец здорового донора-человека. В некоторых вариантах осуществления за аферезом иммунных клеток (например, моноцитов) следует мобилизация с помощью GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления селекция иммунных клеток (например, моноцитов) включает CD14-положительную селекцию с использованием микрогранул (например, микрогранул MACS® на устройстве CliniMACS Prodigy). В некоторых вариантах осуществления в композициях и способах, описанных в данном документе, используется предшественник иммунных клеток (например, предшественники макрофагов, моноцитов или дендритных клеток, включая, но не ограничиваясь этим, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки или iPСК). Предшественники иммунных клеток могут дифференцироваться *in vivo* или *ex vivo* в иммунные клетки. Неограничивающие примеры предшественников иммунных клеток включают гемопоэтические стволовые клетки, общие миелоидные клетки-предшественники, миелобласты, монобласты, промоноциты или их промежуточные продукты. Например, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки можно использовать для получения моноцитов, макрофагов и/или дендритных клеток. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPСК) можно получать из нормальных тканей человека, таких как периферическая кровь, фибробласты, кожа, кератиноциты или почечные эпителиальные клетки. Аутологичные, аллогенные или универсальные донорные iPСК могут дифференцироваться в миелоидные линии (например, моноцитов, макрофагов, дендритных клеток или их предшественников).

[0122] Иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), описанные в данном документе, можно выделять из периферической крови, например, посредством лизиса эритроцитов и истощения лимфоцитов и

эритроцитов, например, путем центрифугирования в градиенте PERCOLL™. В альтернативном варианте иммунные клетки можно выделять из ткани пуповины. Конкретную субпопуляцию иммунных клеток можно дополнительно выделять методами положительной или отрицательной селекции. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки можно истощать в отношении клеток, экспрессирующих определенные антигены, включая, но не ограничиваясь этим, CD34, CD3, CD4, CD8, CD56, CD66b, CD19 или CD20. В некоторых вариантах осуществления обогащение популяции иммунных клеток, например, посредством отрицательной селекции, можно осуществлять, используя комбинацию антител, направленных на поверхностные маркеры, уникальные для прошедших негативную селекцию клеток. В качестве неограничивающего примера, селекция клеток может также включать отрицательную магнитную иммуноадгезивность или проточную цитометрию, в которой используют коктейль моноклональных антител, направленных на маркеры клеточной поверхности, присутствующие на прошедших негативную селекцию клетках.

[0123] Во время выделения необходимой популяции иммунных клеток (например, стволовых клеток, макрофагов, моноцитов или дендритных клеток), описанных в данном документе, с помощью положительной или отрицательной селекции, можно варьировать концентрацию и поверхность (например, частицы, такие как гранулы) иммунных клеток. Может оказаться желательным существенно уменьшить объем, в котором гранулы и клетки смешиваются друг с другом, чтобы обеспечить максимальную площадь контакта клеток и гранул.

[0124] В некоторых вариантах осуществления перед введением иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), описанные в данном документе (например, содержащие экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или слитый белок, описанный в данном документе), обрабатывают провоспалительным агентом. В некоторых вариантах осуществления обработка провоспалительным агентом повышает противоопухолевую активность иммунных клеток, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления обработка провоспалительным агентом стимулирует провоспалительный (т. е. M1) фенотип (например, переключение с противовоспалительного (M2) фенотипа на провоспалительный (M1) фенотип) в иммунных клетках, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления провоспалительный агент содержит или представляет собой агонист CD40 (например, CD40L). В некоторых вариантах осуществления

провоспалительный агент содержит или представляет собой агонист 41BB-лиганда (например, 4-1BB).

[0125] В некоторых вариантах осуществления перед введением иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), описанные в данном документе (например, содержащие экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или слитый белок, описанный в данном документе), обрабатывают противовоспалительным агентом. В некоторых вариантах осуществления обработка противовоспалительным агентом повышает противовоспалительную активность иммунных клеток, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления обработка противовоспалительным агентом стимулирует противовоспалительный (т. е. M2) фенотип (например, переключение с провоспалительного (M1) фенотипа на противовоспалительный (M2) фенотип) в иммунных клетках, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительный агент содержит или представляет собой агонист IL-10. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительный агент содержит или представляет собой агонист TGF β .

[0126] В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), описанные в данном документе (например, содержащие экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или слитый белок, описанный в данном документе), вводят субъекту в комбинации с провоспалительным агентом. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), описанные в данном документе (например, содержащие экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или слитый белок, описанный в данном документе), вводят субъекту практически одновременно, до или после провоспалительного агента. В некоторых вариантах осуществления введение провоспалительного агента повышает противоопухолевую активность иммунных клеток, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления введение провоспалительного агента стимулирует провоспалительный (т. е. M1) фенотип (например, переключение с противовоспалительного (M2) фенотипа на провоспалительный (M1) фенотип) в иммунных клетках, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления провоспалительный агент содержит или представляет собой агонист CD40 (например, CD40L). В некоторых вариантах осуществления провоспалительный агент содержит или представляет собой агонистов 41BB-лиганда (например, 4-1BB).

Макрофаги

[0127] Макрофаги представляют собой иммунные клетки, специализирующиеся на обнаружении, фагоцитозе и разрушении клеток-мишеней, таких как патогены или опухолевые клетки. Макрофаги являются мощными эффекторами врожденной иммунной системы и способны выполнять как минимум три различные противоопухолевые функции: 1) фагоцитоз мертвых и умирающих клеток, микроорганизмов, раковых клеток, клеточного дебриса или других чужеродных веществ; 2) цитотоксичность в отношении опухолевых клеток; и 3) презентация опухолевых антигенов для регуляции адаптивного противоопухолевого иммунного ответа.

[0128] Накопленные данные свидетельствуют о том, что макрофаги в изобилии присутствуют в микроокружении многих видов рака и могут принимать ряд фенотипов, которые в совокупности называются опухолеассоциированными макрофагами (ТАМ). Иммуносупрессивная природа микроокружения опухоли обычно приводит к большему количеству М2-подобных ТАМ, которые дополнительно способствуют общему подавлению противоопухолевого иммунного ответа. Однако недавние исследования показали, что ТАМ можно «перепрограммировать» с помощью провоспалительных сигналов и что переключение с фенотипа М2 на фенотип, более близкий к М1, связано с продуктивными противоопухолевым иммунным ответом. Индукция эндогенных ТАМ для переключения на клетки типа М1 и конструирование макрофагов, которые не могут быть преобразованы в М2, значительно улучшит противоопухолевую иммунотерапию и представляет собой значительный прогресс в данной области техники.

[0129] В некоторых вариантах осуществления макрофаг содержит или представляет собой недифференцированный макрофаг или макрофаг М0. В некоторых вариантах осуществления макрофаг содержит или экспрессирует один, два, три, четыре, пять или шесть из CD14, CD16, CD64, CD68, CD71 или CCR5. Воздействие различных стимулов может вызвать поляризацию макрофагов М0 на несколько различных популяций, которые можно идентифицировать по маркерам фенотипа макрофагов, выработке цитокинов и/или секреции хемокинов.

[0130] В некоторых вариантах осуществления макрофаг содержит или представляет собой поляризованный макрофаг. В классических условиях активации макрофаги М0 могут подвергаться воздействию провоспалительных сигналов, таких как ЛПС, IFN γ и GM-

CSF, и поляризоваться в провоспалительные (т. е. M1) макрофаги. В общем случае провоспалительные (M1) макрофаги связаны с провоспалительными иммунными ответами, таким как ответы T-клеток Th1 и Th17. Воздействие других стимулов может поляризовать макрофаги в неоднородную группу «альтернативно активированных» или противовоспалительных (т. е. M2) макрофагов.

[0131] В некоторых вариантах осуществления макрофаг содержит или представляет собой провоспалительный (M1) макрофаг. В некоторых вариантах осуществления макрофаг экспрессирует один или более маркеров провоспалительных (M1) макрофагов (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или 18 из CD86, CD80, MHC II, IL-1R, TLR2, TLR4, iNOS, SOCS3, CD83, PD-L1, CD69, MHC I, CD64, CD32, CD16, IL1R, члена семейства IFIT или члена семейства ISG).

[0132] В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, секретирует относительно высокие уровни одного или более воспалительных цитокинов (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 из IL-1, TNF, IL-12, IL-18, IL-23, IFN α , IFN β , IFN γ , IL-2, IL-6, IL-8 или IL33) или хемокинов (например, один или оба из хемокинов CC или CXC) (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 хемокинов CXC; например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 или 28 хемокинов CC; например, один из хемокинов CX3C, например, один или оба хемокина C), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, стимулирует иммунный ответ и/или воспаление, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0133] В некоторых вариантах осуществления макрофаг содержит или представляет собой противовоспалительный (M2) макрофаг (например, макрофаг M2a, M2b, M2c и M2d). Макрофаг M2a может индуцироваться IL-4, IL-13 и/или грибковой инфекцией. Макрофаг M2b может индуцироваться лигандами IL-1R, иммунным комплексом и/или ЛПС. Макрофаг M2c может индуцироваться IL-10 и/или TGF β . Макрофаг M2d может индуцироваться IL-6 и/или аденозином. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный

в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, снижает иммунный ответ у субъекта, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг экспрессирует один или более маркеров противовоспалительных (M2) макрофагов (например, один, два или три из CD206, CD163 или CD209). В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную секрецию одного или более противовоспалительных цитокинов (например, одного или обоих IL-10 или TGF β), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0134] В некоторых вариантах осуществления макрофаг имеет по меньшей мере один повышенный провоспалительный (M1) маркер и/или по меньшей мере один пониженный противовоспалительный (M2) маркер по сравнению с контрольным макрофагом, который не содержит экзогенный цитокин, предложенный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, предложенный в данном документе, или тем же самым макрофагом перед доставкой экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один провоспалительный (M1) маркер (например, HLA DR, CD86, CD80, PD-L1, CD83, CD69, MHC I, CD64, CD32, CD16, IL1R, член семейства IFIT и/или член семейства ISG) повышен в макрофаге. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один противовоспалительный (M2) маркер (например, CD206, CD163 и/или CD209) понижен в макрофаге.

[0135] В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенный фагоцитоз, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную цитотоксичность против опухолевой клетки, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или

слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную презентацию опухолевого антигена (например, презентацию после фагоцитоза) и/или повышенный процессинг антигена, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенное уничтожение опухоли (например, посредством фагоцитоза, лизиса, апоптоза или выработки уничтожающих опухоль цитокинов (например, TNF α)), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0136] В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно или оба свойства из повышенной экспрессии одного или более генов, как правило, ассоциируемых с повышенной эффекторной функцией (например, фагоцитозом, целевой клеточной цитотоксичностью, антигенной презентацией или секрецией цитокинов) (например, CD80, CD86, MHC-I, MHC-II, CD40, 41BBL, TNF, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL2, IL12, IL6, IL8, IL1b и/или CXCL12), или сниженной экспрессии одного или более генов, как правило, ассоциируемых со сниженной эффекторной функцией (например, фагоцитозом, целевой клеточной цитотоксичностью, антигенной презентацией или секрецией цитокинов) (например, CD163, CD206, TGF β , IL-10 и/или IL4), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную выработку ROS, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует метаболическое перепрограммирование (например, пути

сигнализации интерферона, пути TH1, сигнализации PTEN, сигнализации PI3K, сигнализации MTOR, сигнализации TLR, сигнализации CD40, сигнализации 41BB, сигнализации 41BBL, сигнализации созревания макрофагов, сигнализации созревания дендритных клеток, сигнализации CD3-дзета, сигнализации FcR γ , сигнализации CD64, сигнализации CD32a, сигнализации CD32c, сигнализации CD16a, сигнализации TLR1, сигнализации TLR2, сигнализации TLR3, сигнализации TLR4, сигнализации TLR5, сигнализации TLR6, сигнализации TLR7, сигнализации TLR8, сигнализации TLR9, сигнализации ALK, сигнализации AXL, сигнализации DDR2, сигнализации EGFR, сигнализации EphA1, сигнализации INSR, сигнализации cMET, сигнализации MUSK, сигнализации PDGFR, сигнализации PTK7, сигнализации RET, сигнализации ROR1, сигнализации ROS1, сигнализации RYK, сигнализации TIE2, сигнализации TRK, сигнализации VEGFR, сигнализации CD40, сигнализации CD19, сигнализации CD20, сигнализации 41BB, сигнализации CD28, сигнализации OX40, сигнализации GITR, сигнализации TREM-1, сигнализации TREM-2, сигнализации DAP12, сигнализации MR, сигнализации ICOS, сигнализации MyD88, сигнализации V/I/LxYxxL/V, сигнализации SIRP α , сигнализации CD45, сигнализации Siglec-10, сигнализации PD1, сигнализации SHP-1, сигнализации SHP-2, сигнализации KIR-2DL, сигнализации KIR-3DL, сигнализации NKG2A, сигнализации CD170, сигнализации CD33, сигнализации BTLA, сигнализации CD32b, сигнализации SIRP β , сигнализации CD22, сигнализации PIR-B и/или сигнализации LILRB1), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует индукцию механизмов выживания клеток, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует индукцию механизмов гибели клеток, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три, четыре или пять свойств из повышенной устойчивости к

контрольным точкам фагоцитоза, повышенной экспрессии рецепторов хемокинов для облегчения переноса, повышенной экспрессии хемокинов для рекрутирования других иммунных клеток, повышенной экспрессии ферментов, разрушающих ВКМ (например, ММР, разрушающих ВКМ опухоли и/или проявляющих противифиброзную активность), и/или повышенной пролиферации, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один CAR, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три или четыре свойства из большей продолжительности экспрессии экзогенного цитокина, улучшенной стабильности CAR на клеточной поверхности, повышенного уровня экспрессии экзогенного цитокина и/или сниженной фоновой активности экзогенного цитокина, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три или четыре свойства из большей продолжительности экспрессии слитого белка, улучшенной стабильности слитого белка на клеточной поверхности, повышенного уровня экспрессии слитого белка и/или сниженной фоновой активности слитого белка, например, по сравнению с макрофагом без слитого белка, описанного в данном документе.

[0137] В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, ослабляет один или более признаков и/или симптомов инфекции (например, инфекционного агента) у субъекта, например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления инфекционный агент содержит или представляет собой вирус, простейший организм (например, трипаносомы, малярию или токсоплазму), бактерии (например, микобактерии, сальмонеллы или листерии), грибы (например, *Candida*) или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления вирус включает вирус гепатита (например, гепатита А, гепатита В, гепатита С или гепатита Е), ретровирус, вирус иммунодефицита человека (например, ВИЧ1 или ВИЧ2), вирус Т-клеточного лейкоза, лимфотропный вирус (например, HTLV1 или HTLV2), вирус простого герпеса (например, вирус простого герпеса типа 1 или типа 2), вирус Эпштейна — Барр, цитомегаловирус, вирус ветряной оспы, полиовирус, вирус кори, вирус краснухи, вирус

японского энцефалита, вирус эпидемического паротита, вирус гриппа, аденовирус, энтеровирус, риновирус, коронавирус (например, вирус тяжелого острого респираторного синдрома (SARS), вирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS) или коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV2)), вирус Эбола, вирус Западного Нила или их вариант или комбинацию.

[0138] В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, снижает образование и/или разрушает существующие агрегаты посредством фагоцитоза по меньшей мере одного белкового агрегата у субъекта (например, у субъекта, имеющего нейродегенеративное заболевание, воспалительное заболевание, сердечно-сосудистое заболевание, фиброзное заболевание, амилоидоз или их комбинацию), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления нейродегенеративное заболевание выбрано из группы, состоящей из таупатии, а-синуклеопатии, пресенильной деменции, сенильной деменции, болезни Альцгеймера, прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), болезни Пика, первичной прогрессирующей афазии, лобно-височной деменции, кортико-базальной деменции, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, множественной системной атрофии, бокового амиотрофического склероза (БАС), синдрома Халлервордена — Шпатца, полиглутаминовой болезни, болезни тринуклеотидных повторов и прионной болезни. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из системной красной волчанки, васкулита, ревматоидного артрита, пародонтита, язвенного колита, синусита, астмы, туберкулеза, болезни Крона, хронической инфекции, наследственной периодической лихорадки, злокачественного новообразования, системных васкулитов, муковисцидоза, бронхоэктазы, буллезного эпидермолиза, циклической нейтропении, иммунодефицита, болезни Макла — Уэллса (БМУ) и семейной средиземноморской лихорадки (ССЛ). В некоторых вариантах осуществления амилоидоз выбран из группы, состоящей из первичного амилоидоза (AL), вторичного амилоидоза (AA), семейного амилоидоза (ATTR), бета-2-микроглобулинового амилоидоза, локализованного амилоидоза, амилоидоза тяжелых цепей (AG), амилоидоза легких цепей (AL), первичного системного амилоидоза, амилоидоза A α AI, амилоидоза A α AI β , амилоидоза A α AI γ , амилоидоза аполипопротеина C2, амилоидоза аполипопротеина C3, лактоферринового амилоидоза роговицы, транстиретин-связанного амилоидоза, диализного амилоидоза, фибриногенового амилоидоза, амилоидоза Lect2 (ALECT2) и

лизоцимного амилоидоза. В некоторых вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание выбрано из группы, состоящей из атеросклероза, заболевания коронарных артерий, заболевания периферических артерий, гипертонической болезни сердца, метаболического синдрома, гипертензии, цереброваскулярного заболевания и сердечной недостаточности. В некоторых вариантах осуществления фиброзное заболевание выбрано из группы, состоящей из легочного фиброза, идиопатического легочного фиброза, цирроза, кистозного фиброза, склеродермии, сердечного фиброза, лучевого поражения легких, стеатогепатита, гломерулосклероза, интерстициального заболевания легких, фиброза печени, медиастинального фиброза, фиброза забрюшинной полости, фиброза костного мозга и фиброза кожи.

Моноциты

[0139] Моноциты представляют собой мультипотентные клетки, циркулирующие в крови, костном мозге и селезенке и обычно не пролиферирующие в стационарном состоянии. Моноциты могут существенно различаться по размеру в диапазоне около 10–30 мкм в диаметре. Отношение ядра к цитоплазме для моноцита может варьироваться от около 2:1 до около 1:1. Как правило, моноциты содержат рецепторы хемокинов и рецепторы распознавания патогенов, которые опосредуют миграцию из крови в ткани, например, во время заражения. Моноциты могут вырабатывать воспалительные цитокины, поглощать клетки и/или токсичные молекулы и дифференцироваться в дендритные клетки или макрофаги.

[0140] В некоторых вариантах осуществления моноцит содержит или экспрессирует один или более фенотипических маркеров. Примеры фенотипических маркеров для клеток моноцитов человека включают, но не ограничиваются этим, CD9, CD11b, CD11c, CDw12, CD13, CD15, CDw17, CD31, CD32, CD33, CD35, CD36, CD38, CD43, CD49b, CD49e, CD49f, CD63, CD64, CD65s, CD68, CD84, CD85, CD86, CD87, CD89, CD91, CDw92, CD93, CD98, CD101, CD102, CD111, CD112, CD115, CD116, CD119, CDw121b, CDw123, CD127, CDw128, CDw131, CD147, CD155, CD156a, CD157, CD162, CD163, CD164, CD168, CD171, CD172a, CD180, CD206, CD131a1, CD213 2, CDw210, CD226, CD281, CD282, CD284 и CD286. Примеры фенотипических маркеров для клеток моноцитов мыши включают, но не ограничиваются этим, CD11a, CD11b, CD16, CD18, CD29, CD31, CD32, CD44, CD45, CD49d, CD115, CD116, CDw131, CD281, CD282, CD284, CD286, F4/80 и CD49b. В некоторых вариантах осуществления моноциты содержат один, два или три из CD11b,

CD14 или CD16. В некоторых вариантах осуществления моноциты включают моноциты CD14+, CD16-, моноциты CD14+, CD16+ или моноциты CD14-CD16+.

[0141] В некоторых вариантах осуществления моноцит дифференцируется в макрофаг. В некоторых вариантах осуществления моноцит дифференцируется в дендритную клетку (ДК). Моноциты можно дифференцировать в макрофаги или ДК любым способом, известным в данной области техники. Например, дифференцировку моноцитов в макрофаги можно индуцировать макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF). Дифференцировку моноцитов в ДК можно индуцировать гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF) в сочетании с IL-4.

[0142] В некоторых вариантах осуществления макрофаг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную секрецию одного или более цитокинов (например, одного, двух, трех, четырех, пяти, шести или семи из TNF, IL-12, IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF или IL-1), например, по сравнению с макрофагом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенный фагоцитоз, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную выживаемость, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную дифференцировку в макрофаги (например, макрофаги M1 или M2), например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном

документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную дифференцировку в ДК (например, резидентные или мигрирующие ДК и/или в лимфоидной и нелимфоидной ткани), например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную цитотоксичность против опухолевой клетки, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную презентацию опухолевого антигена (например, презентацию после фагоцитоза) и/или повышенный процессинг антигена, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенное уничтожение опухоли (например, посредством фагоцитоза, лизиса, апоптоза или выработки уничтожающих опухоль цитокинов (например, TNF α)), например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0143] В некоторых вариантах осуществления моноцитг, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно или оба свойства из повышенной экспрессии одного или более генов, как правило, ассоциируемых с повышенной эффекторной функцией (например, фагоцитозом, целевой клеточной цитотоксичностью, антигенной презентацией или секрецией цитокинов), или сниженной экспрессии одного или более генов, как правило, ассоциируемых со сниженной эффекторной функцией (например, фагоцитозом, целевой клеточной цитотоксичностью, антигенной презентацией или секрецией цитокинов), например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один

экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную выработку ROS, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует метаболическое перепрограммирование, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует индукцию механизмов выживания клеток, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует индукцию механизмов гибели клеток, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три, четыре или пять свойств из повышенной устойчивости к контрольным точкам фагоцитоза, повышенной экспрессии рецепторов хемокинов для облегчения переноса, повышенной экспрессии хемокинов для рекрутирования других иммунных клеток, повышенной экспрессии ферментов, разрушающих ВКМ (например, MMP, разрушающих ВКМ опухоли и/или проявляющих противофиброзную активность), или повышенной пролиферации, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один CAR, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три или четыре свойства из большей продолжительности экспрессии экзогенного цитокина, улучшенной стабильности CAR на клеточной поверхности, повышенного уровня экспрессии экзогенного цитокина и/или сниженной

фоновой активности экзогенного цитокина, например, по сравнению с моноцитом без экзогенного цитокина, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления моноцит, содержащий или экспрессирующий по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три или четыре свойства из большей продолжительности экспрессии слитого белка, улучшенной стабильности слитого белка на клеточной поверхности, повышенного уровня экспрессии слитого белка или сниженной фоновой активности слитого белка, например, по сравнению с моноцитом без слитого белка, описанного в данном документе.

Дендритные клетки

[0144] Дендритные клетки (ДК) представляют собой специализированные антигенпрезентирующие клетки костного мозга, которые участвуют в инициации иммунных ответов и поддержании толерантности иммунной системы к собственным антигенам. Дендритные клетки можно обнаружить как в лимфоидных, так и в нелимфоидных органах, и обычно считается, что они происходят из лимфоидных или миелоидных клеток.

[0145] В некоторых вариантах осуществления ДК содержит или экспрессирует один или более фенотипических маркеров. Например, фенотипические маркеры ДК включают, но не ограничиваются этим, CD11c, CD83, CD1a, CD1c, CD141, CD207, CLEC9a, CD123, CD85, CD180, CD187, CD205, CD281, CD282, CD284, CD286 и частично CD206, CD207, CD208 и CD209.

[0146] Незрелые ДК могут характеризоваться высокой способностью к захвату антигена, но относительно низкой способностью стимулировать Т-клетки. Медиаторы воспаления способствуют созреванию ДК. Как только ДК достигают зрелой стадии, происходит резкое изменение свойств по сравнению с незрелыми ДК, такое как снижение способности захватывать антиген и/или повышенная способность стимулировать Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления ДК включает или представляет собой незрелую ДК. В других вариантах осуществления ДК включает или представляет собой зрелую ДК.

[0147] Не ограничиваясь какой-либо теорией, считается, что модификация ДК-клетки для включения или экспрессии по меньшей мере одного экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или по меньшей мере одного слитого белка, описанного в данном документе, может позволить зрелым ДК одновременно демонстрировать повышенную способность к захвату антигена и стимуляцию Т-клеток, например, по

сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, опосредует презентацию опухолевого антигена, например, повышенную презентацию опухолевого антигена, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, опосредует стимуляцию опухолевых Т-клеток, например, повышенную стимуляцию опухолевых Т-клеток, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0148] В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную секрецию одного или более цитокинов (например, одного, двух, трех, четырех, пяти, шести или семи из TNF, IL-12, IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF или IL-1), например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенный фагоцитоз, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную презентацию опухолевого антигена (например, презентацию после фагоцитоза), повышенный процессинг антигена, повышенную перекрестную презентацию антигена, повышенное примирование Т-клеток и/или стимуляцию Т-клеток, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0149] В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном

документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно или оба свойства из повышенной экспрессии благоприятных генов или сниженной экспрессии неблагоприятных генов, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует повышенную выработку ROS, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует метаболическое перепрограммирование, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует индукцию механизмов выживания клеток, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе.

[0150] В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует индукцию механизмов гибели клеток, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три, четыре или пять свойств из повышенной устойчивости к контрольным точкам фагоцитоза, повышенной экспрессии рецепторов хемокинов для облегчения переноса, повышенной экспрессии хемокинов для рекрутирования других иммунных клетки, повышенной экспрессии ферментов, разрушающих ВКМ (например, MMP, разрушающих ВКМ опухоли и/или проявляющих противofiброзную активность), или повышенной пролиферации, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе, или слитого белка, описанного в данном документе. В

некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один CAR, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три или четыре свойства из большей продолжительности экспрессии экзогенного цитокина, улучшенной стабильности CAR на клеточной поверхности, повышенного уровня экспрессии экзогенного цитокина и/или сниженной фоновой активности экзогенного цитокина, например, по сравнению с ДК без экзогенного цитокина, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ДК, содержащая или экспрессирующая по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, демонстрирует одно, два, три или четыре свойства из большей продолжительности экспрессии слитого белка, улучшенной стабильности слитого белка на клеточной поверхности, повышенного уровня экспрессии слитого белка или сниженной фоновой активности слитого белка, например, по сравнению с ДК без слитого белка, описанного в данном документе.

Способы модификации иммунных клеток

[0151] В настоящем изобретении предложены, помимо прочего, способы модификации иммунной клетки (например, стволовой клетки, моноцита, макрофага или дендритной клетки), включающие доставку в иммунную клетку конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR). Способы могут включать доставку в иммунную клетку (например, стволовую клетку, моноцит, макрофаг или дендритную клетку) конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и CAR.

[0152] В настоящем изобретении также предложены, помимо прочего, способы модификации иммунной клетки (например, стволовой клетки, моноцита, макрофага или дендритной клетки), включающие доставку в иммунную клетку конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок или его фрагмент. Способы могут включать доставку в иммунную клетку (например, стволовую клетку, моноцит, макрофаг или дендритную клетку) конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих: слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор.

[0153] Конструкцию нуклеиновой кислоты, содержащую одну или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или по меньшей мере один слитый белок,

описанный в данном документе, можно вносить в иммунную клетку (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку) физическими, химическими или биологическими способами. Физические способы внесения конструкции нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, в иммунную клетку (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку) могут включать электропорацию, преципитацию фосфатом кальция, липофекцию, бомбардировку частицами, микроинъекцию или их комбинацию. Конструкцию нуклеиновой кислоты можно вносить в иммунные клетки, используя коммерчески доступные способы, включая электропорацию (Amaha Nucleofector-II® (Amaha Biosystems, Cologne, Germany), ECM 830 BTX (Harvard Instruments, Boston, Mass.) Gene Pulser II® (BioRad, Denver, Colo.) или Multiporator® (Eppendorf, Hamburg Germany)). Конструкцию нуклеиновой кислоты также можно вносить в иммунные клетки, используя трансфекцию мРНК, например, трансфекцию, опосредованную катионными липосомами, липофекцию, полимерную инкапсуляцию, трансфекцию, опосредованную пептидами, или системы доставки биологических частиц, таких как «генные пушки» (смотрите, например, Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001), содержание которой в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки).

[0154] Биологические способы внесения конструкции нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, в иммунную клетку (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку) включают использование ДНК- и РНК-векторов. Вирусные векторы, и особенно ретровирусные векторы, стали широко использовать для вставки генов в клетки млекопитающих (например, клетки человека). Вирусные векторы также можно получать из лентивирусов, поксвирусов, вируса простого герпеса I, аденовирусов (например, Ad5f35) или аденоассоциированных вирусов (смотрите, например, патенты США №№ 5350674 и 5585362, которые в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки). Ретровирусные векторы, такие как лентивирусы, являются подходящими инструментами для достижения долгосрочного переноса генов, которые обеспечивают долгосрочную стабильную интеграцию трансгена и его размножение в дочерних клетках. В некоторых вариантах осуществления лентивирусный вектор упакован с белком V_{pr} (например, как описано в международной публикации № WO 2017/044487, которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления V_{pr} содержит белок, ассоциированный с вирионом (например, вспомогательный белок для репликации вируса). В некоторых вариантах осуществления белок V_{pr} кодируется вирусом иммунодефицита человека типа 2 (ВИЧ-2). В некоторых вариантах осуществления белок V_{pr} кодируется вирусом иммунодефицита

обезьян (SIV). В некоторых вариантах осуществления иммунную клетку, описанную в данном документе (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку), трансфицируют лентивирусным вектором, упакованным белком Vpx. В некоторых вариантах осуществления Vpx ингибирует по меньшей мере один противовирусный фактор иммунной клетки, описанной в данном документе (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки). В некоторых вариантах осуществления лентивирусный вектор, упакованный белком Vpx, демонстрирует повышенную эффективность трансфекции иммунной клетки, описанной в данном документе (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки), например, по сравнению с лентивирусным вектором, не упакованным белком Vpx. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в данном документе (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), электропорирована или трансфицирована, или и то и другое, по меньшей мере одной мРНК VPX до трансфекции вирусным вектором (например аденовирусным вектором, например вектором Ad2 или вектором Ad5 (например аденовирусным вектором Ad5f35, например хелпер-зависимым аденовирусным вектором Ad5F35)).

[0155] Химические средства для внесения конструкции нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, в иммунную клетку (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку) включают системы коллоидной дисперсии, макромолекулярные комплексы, нанокапсулы, микросферы, гранулы и системы на основе липидов (например, эмульсии типа «масло в воде», мицеллы, смешанные мицеллы, наночастицы, липосомы и комплексы липофектамин – нуклеиновая кислота).

[0156] Типовая система доставки конструкции нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, представляет собой систему на основе липидов. Конструкция нуклеиновой кислоты, описанная в данном документе, может быть инкапсулирована в водную внутреннюю часть липосомы, вкраплена в липидный бислой, присоединена к липосоме через связывающую молекулу, заключена в липосому, связана в комплекс с липосомой, диспергирована в растворе или суспензии, содержащем липид, смешана с липидом, в комплексе с мицеллой или иным образом связана с липидом. Липиды для применения в описанных в данном документе способах могут быть природными или синтетическими липидами. Липиды также могут быть получены из коммерческих источников. Например, димиристилфосфатидилхолин может быть получен от Sigma (St. Louis, MO); дицетилфосфат может быть получен от K&K Laboratories (Plainview, NY); холестерин может быть получен от Calbiochem-Behring и димиристилфосфатидилглицерин

может быть получен от Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, AL.). Исходные растворы липидов в хлороформе или хлороформе/метаноле можно хранить при температуре около -20 °C.

[0157] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения конструкция нуклеиновой кислоты представляет собой или содержит мРНК. В некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению можно синтезировать в виде немодифицированной или модифицированной мРНК. Обычно мРНК модифицируют для повышения стабильности. Модификации мРНК могут включать, например, модификации нуклеотидов РНК. Таким образом, модифицированная мРНК в соответствии с настоящим изобретением может содержать, например, модификации остова, модификации сахаров или модификации оснований. В некоторых вариантах осуществления стадия модификации мРНК включает осуществление включения в мРНК модифицированного нуклеотида, изменения 5'- или 3'-нетранслируемой области (НТО), кэп-структуры и/или поли(А)-хвоста.

[0158] В некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению (например, мРНК, кодирующие экзогенные цитокины, мРНК, кодирующие САР, или мРНК, кодирующие слитые белки) могут содержать модификации остова РНК. Как правило, модификация остова представляет собой модификацию, при которой фосфаты остова нуклеотидов, содержащихся в РНК, модифицированы химически. Типовые модификации остова обычно включают, но не ограничиваются этим, модификации из группы, состоящей из метилфосфонатов, метилфосфорамидатов, фосфорамидатов, фосфоротиоатов (например, цитидин-5'-О-(1-тиофосфат)), боранофосфатов, положительно заряженных гуанидиновых групп и т. д., которые включает замену фосфодиэфирной связи другими анионными, катионными или нейтральными группами.

[0159] В некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению (например, мРНК, кодирующие экзогенные цитокины, мРНК, кодирующие САР, или мРНК, кодирующие слитые белки) могут содержать модификации сахара. Типичная модификация сахара представляет собой химическую модификацию сахара в нуклеотидах, включая, но не ограничиваясь этим, модификации сахара, выбранные из группы, состоящей из 2'-дезоксигуанидин-2'-фторолигорибонуклеотида (2'-фтор-2'-дезоксигуанидин 5'-трифосфата, 2'-фтор-2'-дезоксисуридин 5'-трифосфата), 2'-дезоксигуанидин-2'-деамин-олигорибонуклеотида (2'-амино-2'-дезоксигуанидин 5'-трифосфата, 2'-амино-2'-дезоксисуридин 5'-трифосфата), 2'-О-алкилолигорибонуклеотида, 2'-дезоксигуанидин-2'-С-алкилолигорибонуклеотида (2'-О-метилцитидин 5'-трифосфата, 2'-метилуридин 5'-трифосфата), 2'-С-

алкилолигорибонуклеотида и их изомеров (2'-арацитидин-5'-трифосфата, 2'-арауридин-5'-трифосфата) или азидотрифосфатов (2'-азидо-2'-дезоксцитидин 5'-трифосфата, 2'-азидо-2'-дезоксиуридин 5'-трифосфата).

[0160] В некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению (например, мРНК, кодирующие экзогенные цитокины, мРНК, кодирующие CAR, или мРНК, кодирующие слитые белки) могут содержать модификации нуклеотидных оснований (модификации оснований). Модифицированный нуклеотид, который содержит модификацию основания, также называют нуклеотидом с модифицированным основанием.

[0161] Как правило, синтез мРНК включает добавление «кэпа» на N-конце (5') и «хвоста» на C-конце (3'). Наличие кэпа важно для обеспечения устойчивости к нуклеазам, присутствующим в большинстве эукариотических клеток. Наличие «хвоста» служит для защиты мРНК от расщепления экзонуклеазой.

[0162] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению (например, мРНК, кодирующие экзогенные цитокины, мРНК, кодирующие CAR, или мРНК, кодирующие слитые белки) содержат структуру 5'-кэпа. 5'-кэп обычно добавляют следующим образом: сначала концевая фосфатаза РНК удаляет одну из концевых фосфатных групп с 5'-нуклеотида, оставляя два концевых фосфата; гуанозинтрифосфат (ГТФ) затем добавляется к концевым фосфатам с помощью гуанилилтрансферазы, образуя 5'-трифосфатную связь; затем 7-азот гуанина метилируется метилтрансферазой. Примеры структур кэпа включают, но не ограничиваются этим, m⁷G(5')ppp(5'(A,G(5')ppp(5')A и G(5')ppp(5')G. В некоторых вариантах осуществления кэп содержит структуру Cap0. В структурах cap0 отсутствует 2'-О-метильный остаток рибозы, присоединенный к основаниям 1 и 2. В некоторых вариантах осуществления кэп содержит структуру AGCap1. Структуры AGCap1 имеют 2'-О-метильный остаток в основании 2. В некоторых вариантах осуществления кэп содержит структуру Cap2. Структуры Cap2 имеют 2'-О-метильный остаток, присоединенный к обоим основаниям 2 и 3. В некоторых вариантах осуществления структура кэпа содержит AGCap1, m⁶AGCap1 или аналог кэпа с правильной ориентацией (ARCA). В некоторых вариантах осуществления модифицированная мРНК по настоящему изобретению содержит m⁶AGCap1 и модифицированные нуклеотиды, содержащие псевдоуридин (PsU).

[0163] В некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению (например, мРНК, кодирующие экзогенные цитокины, мРНК, кодирующие CAR, или мРНК, кодирующие слитые белки) содержат структуру 3'-поли(А)-хвоста. Поли(А)-хвост на 3'-конце мРНК обычно содержит около 10–400 аденозиновых нуклеотидов (SEQ ID NO:

176) (например, около 100–400 аденозиновых нуклеотидов, около 10–200 аденозиновых нуклеотидов, около 10–150 аденозиновых нуклеотидов, около 10–100 аденозиновых нуклеотидов, около 20–70 аденозиновых нуклеотидов или около 20–60 аденозиновых нуклеотидов). В некоторых вариантах осуществления мРНК включают структуру 3'-поли(С)-хвоста. Подходящий поли(С)-хвост на 3'-конце мРНК обычно содержит около 10–200 цитозиновых нуклеотидов (SEQ ID NO: 177) (например, около 10–150 цитозиновых нуклеотидов, около 10–100 цитозиновых нуклеотидов, около 20–70 цитозиновых нуклеотидов, около 20–60 цитозиновых нуклеотидов или около 10–40 цитозиновых нуклеотидов). Поли(С)-хвост может быть добавлен к поли(А)-хвосту или может быть заменой поли(А)-хвоста.

[0164] В некоторых вариантах осуществления мРНК по настоящему изобретению (например, мРНК, кодирующие экзогенные цитокины, мРНК, кодирующие CAR, или мРНК, кодирующие слитые белки) содержат 5' и/или 3' нетранслируемую область. В некоторых вариантах осуществления 5'-нетранслируемая область включает один или более элементов, влияющих на стабильность или трансляцию мРНК, например, чувствительный к железу элемент. В некоторых вариантах осуществления 5'-нетранслируемая область может иметь длину около 50–500 нуклеотидов.

[0165] В некоторых вариантах осуществления 3'-нетранслируемая область включает один или более из сигналов полиаденилирования, сайт связывания белков, влияющих на стабильность положения мРНК в клетке, или один или более сайтов связывания микроРНК. В некоторых вариантах осуществления 3'-нетранслируемая область может иметь длину от 50 до 500 нуклеотидов или более.

Обработка и культивирование иммунных клеток во время модификации

[0166] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают один или более этапов обработки иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) в процессе модификации иммунной клетки.

[0167] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают этап обработки иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) модулятором пути, активируемого транскрибируемой *in vitro* мРНК. Транскрибируемая *in vitro* (IVT) мРНК распознается различными эндосомальными рецепторами врожденного иммунитета (Toll-подобный рецептор 3 (TLR3), TLR7 и TLR8) и цитоплазматическими рецепторами врожденного иммунитета (протеинкиназа, активируемая РНК (PKR), белок гена I, индуцируемый ретиноевой кислотой (RIG-I), белок 5, ассоциированный с дифференцировкой меланомы (MDA5), и 2'-

5'-олигоденилатсинтаза (ОАС)). Передача сигналов через эти различные пути приводит к воспалению, связанному с интерфероном типа 1 (IFN), фактором некроза опухолей (TNF), интерлейкином-6 (IL-6), IL-12 и активацией каскадов транскрипционных программ. В целом, они создают провоспалительное микроокружение, способное вызывать специфические иммунные ответы. Более того, последующие эффекты, такие как замедление трансляции за счет фосфорилирования эукариотического фактора инициации трансляции 2 α (eIF2 α), усиленное расщепление РНК рибонуклеазой L (РНКазой L), а также сверхэкспрессия и ингибирование репликации самоамплифицирующейся мРНК, имеют отношение к фармакокинетике и фармакодинамике мРНК IVT.

[0168] В некоторых вариантах осуществления модулятор пути, активируемого транскрибируемой *in vitro* мРНК, содержит ингибитор РНКазы. В некоторых вариантах осуществления модулятор пути, активируемого транскрибируемой *in vitro* мРНК, включает ингибитор РНКазы L, РНКазы T2 или РНКазы 1. В некоторых вариантах осуществления модулятор пути, активируемого транскрибируемой *in vitro* мРНК, содержит ингибитор РНКазы L. В некоторых вариантах осуществления ингибитор РНКазы L включает сунитиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор РНКазы L включает АВСЕ1.

[0169] В некоторых вариантах осуществления обработка иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) ингибитором РНКазы L повышает стабильность мРНК в модифицированной иммунной клетке по сравнению со стабильностью мРНК в модифицированной иммунной клетке того же типа, которую не обрабатывали ингибитором РНКазы L. В некоторых вариантах осуществления обработка иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) ингибитором РНКазы L повышает экспрессию экзогенного цитокина в модифицированной иммунной клетке по сравнению с экспрессией экзогенного цитокина в модифицированной иммунной клетке того же типа, которую не обрабатывали ингибитором РНКазы L. В некоторых вариантах осуществления обработка иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) ингибитором РНКазы L повышает экспрессию слитого белка в модифицированной иммунной клетке по сравнению с экспрессией слитого белка в модифицированной иммунной клетке того же типа, которую не обрабатывали ингибитором РНКазы L. В некоторых вариантах осуществления обработка иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) ингибитором РНКазы L повышает эффекторную активность в модифицированной иммунной клетке по сравнению с эффекторной активностью в

модифицированной иммунной клетке того же типа, которую не обрабатывали ингибитором РНКазы L.

[0170] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения этап обработки иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) происходит до этапа доставки мРНК в иммунную клетку.

[0171] В некоторых вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают этап культивирования иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком. В некоторых вариантах осуществления цитокин включает IFN- α , IFN- β , IFN- γ , TNF α , IL-6, STNGL, LPS, агонист CD40, лиганд 4-1BB, рекомбинантный 4-1BB, агонист CD19, агонист TLR (например, TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5, TLR-6, TLR-7, TLR-8 или TLR-9), TGF- β (например, TGF- β 1, TGF- β 2 или TGF- β 3), глюкокортикоид, иммунный комплекс, интерлейкин-1 альфа (IL-1 α), IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-20, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), фактор ингибирования лейкоза (LIF), онкостатин M (OSM), TNF- β , CD154, лимфотоксин бета (LT- β), лиганд, индуцирующий пролиферацию (APRIL), CD70, CD153, индуцируемый глюкокортикоидами лиганд рецептора TNF (GITRL), член суперсемейства фактора некроза опухолей 14 (TNFSF14), OX40L (CD252), TALL-1 (член суперсемейства лигандов фактора некроза опухолей 13B - TNFSF13B), связанный с TNF лиганд, индуцирующий апоптоз (TRAIL), слабый индуктор апоптоза, связанный с TNF (TWEAK), индуцируемый активацией связанный с TNF цитокин (TRANCE), эритропоэтин (Epo), предшественник тиреоидной пероксидазы (Tro), связанный с FMS лиганд тирозинкиназы 3 (FLT-3L), фактор стволовых клеток (SCF), макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), поверхностный белок мерозоитов (MSP), лиганд нуклеотид-связывающего белка, содержащего домен олигомеризации (NOD) (например, агонисты NOD1, NOD2 или NOD1/2), лиганд RIG-I-подобного рецептора (RLR) (например, 5'ppp-дцРНК, 3 α -шРНК, поли(I:C) или поли(dA:dT)), лиганд лектинового рецептора (CLR) C-типа (например, курдлан, β -глюкан, НКСА, ламинарин, пустулан, склероглюкан, диспергируемый WGP, растворимый WGP, зимозан, обедненный зимозан, фурфурман, b-GlcCer, GlcC14C18, НКМТ, TDB, TDB-HS15 или TDM), циклический динуклеотидный сенсорный лиганд (например, агонист C-Gas или стимулятор гена интерферона (STING) лиганд), индуктор воспаления (например, квасцы, АТФ, кристаллы CPPD, гемозоин, кристаллы MSU, Nano-

SiO₂, нигерицин или TDB), арилуглеводородный (AhR) лиганд (например, FICZ, индирубин, ITE или L-кинуренин), лиганд альфа-протеинкиназы 1 (ALPK1), лиганд мульти-PRR, активатор NFκB/NFAT (например, конкавалин А, иономицин, РНА-Р или РМА) или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления цитокин включает IFN-β.

[0172] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения этап обработки иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) происходит после этапа доставки мРНК в иммунную клетку.

[0173] В некоторых вариантах осуществления культивирование модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком повышает жизнеспособность модифицированной иммунной клетки по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, которую не культивировали с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком. В некоторых вариантах осуществления культивирование модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком повышает экспрессию белка (например, экзогенного цитокина, CAR или слитого белка) модифицированной иммунной клеткой по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, которую не культивировали с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком. В некоторых вариантах осуществления культивирование модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком повышает продолжительность экспрессии белка (например, экзогенного цитокина, CAR или слитого белка) по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, которую не культивировали с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком. В некоторых вариантах осуществления культивирование модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком повышает эффекторную активность модифицированной иммунной клетки по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, которую не культивировали с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком. В некоторых вариантах осуществления культивирование модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки) с цитокином или иммуностимулирующим

рекомбинантным белком повышает провоспалительную (M1) поляризацию модифицированной иммунной клетки по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, которую не культивировали с цитокином или иммуностимулирующим рекомбинантным белком.

Модифицированные иммунные клетки

[0174] В некоторых вариантах осуществления модифицированную иммунную клетку (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку) создают с помощью способов по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную жизнеспособность по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную экспрессию мРНК, кодирующей экзогенный цитокин и/или CAR, по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную экспрессию экзогенного цитокина и/или CAR по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную долговечность мРНК, кодирующей экзогенный цитокин и/или CAR, по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную

мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную долговечность экзогенного цитокина и/или CAR по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную эффекторную активность по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR, предложенные в данном документе, демонстрирует повышенную провоспалительную (M1) поляризацию по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую экзогенный цитокин и/или CAR.

[0175] В некоторых вариантах осуществления модифицированную иммунную клетку (например, стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку) создают с помощью способов по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную жизнеспособность по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную экспрессию мРНК, кодирующей слитый белок, по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную экспрессию слитого белка по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок. В некоторых вариантах

осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную долговечность мРНК, кодирующей слитый белок, по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную долговечность слитого белка по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную эффекторную активность по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая модифицированную мРНК, кодирующую слитый белок, предложенный в данном документе, демонстрирует повышенную провоспалительную (M1) поляризацию по сравнению с модифицированной иммунной клеткой того же типа, содержащей немодифицированную мРНК, кодирующую слитый белок.

Анализы

[0176] Для подтверждения присутствия конструкции нуклеиновой кислоты, описанной в данном документе, в иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците или дендритной клетке) можно проводить различные анализы. Например, такие анализы включают молекулярно-биологические анализы, хорошо известные специалистам в данной области техники, такие как Саузерн- и нозерн-блоттинг, ОТ-ПЦР и ПЦР; и биохимические анализы, такие как выявления присутствия или отсутствия конкретного пептида, например, с помощью иммунологических средств (ELISA и вестерн-блоттинг). Другие анализы по настоящему изобретению включают, например, сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), иммунофлуоресцентную

микроскопию, анализ цитокинов MSD, масс-спектрометрию (МС), секвенирование РНК и функциональные анализы.

[0177] Можно проводить различные анализы для определения различных характеристик модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки), таких как, но не ограничиваясь этим, жизнеспособность иммунной клетки, экспрессия нуклеиновой кислоты, долговечность нуклеиновой кислоты, экспрессия белка (например, экзогенного цитокина, CAR или слитого белка), долговечность белка (например, экзогенного цитокина, CAR или слитого белка), эффекторная активность и провоспалительная (M1) поляризация. Например, такие анализы могут включать проточную цитометрию, количественную ПЦР и *in vitro* функциональные анализы, такие как анализы секреции цитокинов/хемокинов, фагоцитоза и специфического лизиса опухолевых клеток-мишеней.

Экзогенные цитокины

[0178] В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) по настоящему изобретению не содержат слитые белки. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) по настоящему изобретению содержат по меньшей мере один экзогенный цитокин и по меньшей мере один химерный антигенный рецептор (CAR). В контексте данного документа термин «экзогенный цитокин» относится к цитокину, вырабатываемому в результате внесения материала экзогенной нуклеиновой кислоты (например, ДНК или РНК), кодирующей цитокин, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит провоспалительный (M1) цитокин. В некоторых вариантах осуществления провоспалительный цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN- α 1, IFN- α 2, IFN- α 4, IFN- α 5, IFN- α 6, IFN- α 7, IFN- α 8, IFN- α 10, IFN- α 13, IFN- α 14, IFN- α 16, IFN- α 17, IFN- α 21, IFN- β , IFN- ω , IFN- ϵ или IFN- κ), интерферон типа II (IFN- γ), интерферон типа III (IFN- λ 1, IFN- λ 2, IFN- λ 3 или IFN- λ 4), TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17, IL-23 или GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит противовоспалительный (M2) цитокин. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительный цитокин представляет собой или содержит IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF- β . В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN- α 1, IFN- α 2, IFN- α 4, IFN- α 5, IFN- α 6, IFN- α 7, IFN- α 8, IFN- α 10, IFN- α 13, IFN- α 14, IFN-

$\alpha 16$, IFN- $\alpha 17$, IFN- $\alpha 21$, IFN- β , IFN- ω , IFN- ϵ или IFN- κ), интерферон типа II (IFN- γ), интерферон типа III (IFN- $\lambda 1$, IFN- $\lambda 2$, IFN- $\lambda 3$ или IFN- $\lambda 4$), TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF- β . В некоторых вариантах осуществления цитокин выбран из **таблицы 1**.

[0179] В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин (например, последовательности в **таблице 2a** и **таблице 2b**). В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению включает цитокин, содержащий сконструированную аминокислотную последовательность (например, последовательности в **таблице 6**). В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность сконструированного цитокина получена из последовательности эндогенного цитокина.

[0180] В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит кольцевую пермутацию. Кольцевая пермутация является версией белка, в которой секции аминокислот перестроены так, что область аминокислот из середины эндогенного белка теперь находится на N-конце или C-конце, но при этом полученный белок все еще обладает трехмерной формой, сходной с эндогенным белком. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин, содержащий кольцевую пермутацию цитокина, характеризуется повышенным связыванием между цитокином и его соответствующим цитокиновым рецептором по сравнению с экзогенным цитокином, содержащим такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин, содержащий кольцевую пермутацию цитокина, характеризуется повышенной сигнализацией по сравнению с экзогенным цитокином, содержащим такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит кольцевую пермутацию IL-1 β , IL-4, IL-10 или IL-13.

[0181] В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит одноцепочечный цитокин. В контексте данного документа одноцепочечный цитокин содержит две или более копий цитокина, слитых вместе. В некоторых вариантах осуществления две или более копий цитокина в одноцепочечном цитокине разделены линкером. В некоторых вариантах осуществления одноцепочечный цитокин позволяет экзогенному цитокину по настоящему изобретению имитировать эндогенный цитокин, который действует как мультимер при связывании со своим

соответствующим цитокиновым рецептором. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит одноцепочечный цитокин, содержащий две или более копий IFN- γ , TNF- α , IL-12 или IL-10.

[0182] В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин представляет собой или содержит мономерный цитокин. В контексте данного документа мономерный цитокин был сконструирован так, чтобы он не должен был мультивмеризоваться (например, димеризоваться или тримеризоваться) с целью связывания со своим соответствующим цитокиновым рецептором. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит мономерный цитокин, содержащий сконструированную версию IFN- γ , TNF- α , IL-12 или IL-10.

[0183] В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 95 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 96 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 97 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления экзогенный цитокин по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых

Слитые белки

[0185] В контексте данного документе термин «слитый белок» относится к искусственному химерному белку, содержащему цитокин, слитый с по меньшей мере одной из субъединиц его соответствующего рецептора так, что цитокин может внутримолекулярно связывать свой рецептор и индуцировать последующую сигнализацию. Слитые белки можно использовать, например, в качестве терапии с адаптивным переносом клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты и/или дендритные клетки) выделяют из организма пациента (например, из крови, опухоли или асцитной жидкости) и модифицируют таким образом, чтобы они экспрессировали слитый белок. В некоторых вариантах осуществления такие модифицированные иммунные клетки затем повторно вносят в организм того же или отличного пациента в качестве терапевтического средства.

[0186] В некоторых вариантах осуществления слитый белок может содержать одно или более из: одного или более цитокинов, одного или более линкеров и одного или более цитокиновых рецепторов (смотрите **Фиг. 1**). В некоторых вариантах осуществления слитые белки по настоящему изобретению являются мембраносвязанными. В некоторых вариантах осуществления слитые белки по настоящему изобретению не являются мембраносвязанными.

[0187] В вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению дополнительно содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит от N-конца к C-концу: сигнальный пептид, цитокин, линкер и цитокиновый рецептор (смотрите **Фиг. 2**).

[0188] В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит линкер между цитокином и цитокиновым рецептором. В контексте данного документе термин «линкер» относится к олиго- или полипептиду, чьей функцией является связывание цитокина с цитокиновым рецептором в полипептидной цепи в слитом белке по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления линкер может содержать до 300 аминокислот, предпочтительно от 5 до 100 аминокислот и наиболее предпочтительно от 5 до 30 аминокислот.

[0189] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок, может содержать одну или более систем контроля, включая, но не ограничиваясь этим:

переключатель безопасности (например, включатель, выключатель, суицидный переключатель), транскрипционный контроль (например, клеточно-специфические промоторы, специфические в отношении клеточного состояния промоторы, промоторы, действующие после активации слитого белка, промоторы, действующие после эндогенных сигнальных путей, или индуцируемая лекарственным средством транскрипция), посттранскрипционный контроль мРНК слитого белка (например, мРНК-обусловленное ингибирование с эндогенной или рекомбинантной миРНК) или посттрансляционный контроль структуры и стабильности слитого белка (например, слитого белка, чей внутриклеточный домен кондиционально связан с полной структурой за счет индуцированной лекарственным средством/светом ассоциации (для обеспечения возможности сигнализации) или диссоциации (для ингибирования сигнализации), или чья стабильность регулируется лекарственным средством для индуцируемой стабилизации (для обеспечения возможности сигнализации) или деградации (для ингибирования сигнализации)). Эти системы контроля можно комбинировать для создания логических элементов, например, элемента И (например, слитый белок с индуцируемым слитым белком промотором и цитозольным доменом, который ассоциирует лекарственно-зависимым образом, требуя, таким образом, активации слитого белка и наличия малой молекулы), элемента ИЛИ (например, слитый белок под управлением промотора, который является транскрипционно активным после активации слитого белка или добавления малой молекулы) и/или элемента НЕТ (например, слитый белок, чья мРНК расщепляется эндогенной миРНК, экспрессируемой при состояниях сигнализации природной иммунной клетки (например, когда уровень миРНК повышается сигнальным путем конкретного цитокина, таким образом, экспрессия слитого белка происходит только в отсутствие этого цитокина)). В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка, например, модифицированную стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, создают путем экспрессии в ней слитого белка. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка содержит слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор, при этом иммунная клетка включает стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, а цитокин связывает цитокиновый рецептор.

[0190] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокин выбранный из **таблицы 1**, и соответствующий рецептор 1, выбранный из того же ряда в **таблице 1**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокин выбранный из **таблицы 1**, и соответствующий рецептор 2/коррецептор, выбранный из того же ряда в **таблице 1**.

Таблица 1 – Цитокины и соответствующие рецепторы

Цитокин	M1/M2	Рецептор 1	Рецептор 2 или корецептор
IFN- α 2	M1	IFNAR1	IFNAR2
IFN- β	M1	IFNAR1	IFNAR2
IFN- γ	M1	IFNGR1	IFNGR2
TNF- α	M1	TNFR1	TNFR2
IL-1 β	M1	IL-1R1	IL-1R3
IL-6	M1	IL-6R α	gp130
IL-12	M1	IL-12-R β 1	IL-12-R β 2
IL-4	M2	IL-4R α	IL-2R γ c или IL-13R α 1
IL-10	M2	IL-10R1	IL-10R2
IL-13	M2	IL-13R α 1	IL-4R α
IL-18	M2	IL-18R α	IL-18R β

[0191] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит интерлейкин 10 (IL-10), линкер и рецептор интерлейкина 10 (IL10R).

[0192] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит интерферон бета (IFN β), линкер и рецептор интерферона- α/β (IFNAR).

[0193] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка) дополнительно содержит химерный антигенный рецептор (CAR) по настоящему изобретению.

[0194] В настоящем изобретении также предложены иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), содержащие последовательность нуклеиновой кислоты (например, выделенную последовательность нуклеиновой кислоты), кодирующую слитый белок, при этом последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую цитокин, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую линкер, и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую цитокиновый рецептор, при этом клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, которая экспрессирует слитый белок.

[0195] В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит цитокин, который функционально связан с другим доменом слитого белка, таким как цитокиновый

рецептор, для экспрессии в иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците или дендритной клетке).

[0196] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению экспрессируется на поверхности модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки). В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению индуцирует провоспалительный фенотип, о чем свидетельствуют выработка цитокинов, изменения генной экспрессии, маркеры клеточной поверхности и/или функциональные анализы. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению индуцирует противовоспалительный фенотип, о чем свидетельствуют выработка цитокинов, изменения генной экспрессии, маркеры клеточной поверхности и/или функциональные анализы.

[0197] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 95 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 96 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 97 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему

изобретению содержит аминокислотную последовательность идентичную последовательности, выбранной из таблицы 9.

[0198] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 85 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 90 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 95 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 96 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 97 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10.

[0199] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет провоспалительный фенотип в течение времени. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка),

содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет провоспалительный фенотип в течение по меньшей мере 4 часов, 2 дней, 4 дней, 7 дней, 14 дней и/или 28 дней после модификации иммунной клетки нуклеиновой кислотой, кодирующей слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет провоспалительный фенотип дольше, чем иммунная клетка, индуцированная предварительной обработкой растворимым цитокином.

[0200] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет противовоспалительный фенотип в течение времени. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет противовоспалительный фенотип в течение по меньшей мере 4 часов, 2 дней, 4 дней, 7 дней, 14 дней и/или 28 дней после модификации иммунной клетки нуклеиновой кислотой, кодирующей слитый белок. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет противовоспалительный фенотип дольше, чем иммунная клетка, индуцированная предварительной обработкой растворимым цитокином.

[0201] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет провоспалительный фенотип и/или иным образом противостоит обратному изменению при стимуляции противовоспалительными цитокинами. В некоторых вариантах осуществления чувствительность модифицированной иммунной клетки к окружающим цитокинам измеряют путем создания кривой доза – ответ для провоспалительных маркеров посредством обработки иммунных клеток, содержащих провоспалительные слитые белки, возрастающими концентрациями противовоспалительных цитокинов. В некоторых вариантах осуществления чувствительность модифицированной иммунной клетки к окружающим цитокинам измеряют путем создания кривой доза – ответ для провоспалительных маркеров посредством обработки иммунных клеток, содержащих провоспалительные слитые белки, возрастающими концентрациями провоспалительных цитокинов (например, количественно оценивая эффект растворимого IFN- β на модифицированные иммунные клетки, содержащие слитый белок IFN- β).

[0202] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, сохраняет противовоспалительный фенотип и/или иным образом противостоит обратному изменению при стимуляции провоспалительными цитокинами. В некоторых вариантах осуществления чувствительность модифицированной иммунной клетки к окружающим цитокинам измеряют путем создания кривой доза – ответ для противовоспалительных маркеров посредством обработки иммунных клеток, содержащих противовоспалительные слитые белки, возрастающими концентрациями провоспалительных цитокинов. В некоторых вариантах осуществления чувствительность модифицированной иммунной клетки к окружающим цитокинам измеряют путем создания кривой доза – ответ для противовоспалительных маркеров посредством обработки иммунных клеток, содержащих противовоспалительные слитые белки, возрастающими концентрациями противовоспалительных цитокинов (например, количественно оценивая эффект растворимого IL-10 на модифицированные иммунные клетки, содержащие слитый белок IL-10).

[0203] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, имеет минимальный эффект на соседние клетки. В некоторых вариантах осуществления эффект модифицированной иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки), содержащей слитый белок по настоящему изобретению, на немодифицированную клетку (например, иммунную клетку, которая не содержит слитый белок по настоящему изобретению) можно исследовать путем совместного культивирования модифицированных иммунных клеток с немодифицированными иммунными клетками и использования проточной цитометрии для анализа экспрессии провоспалительных и противовоспалительных маркеров в немодифицированных клетках. В некоторых вариантах осуществления модифицированные иммунные клетки и немодифицированные иммунные клетки можно совместно культивировать в культуральной планшете, где модифицированные иммунные клетки и немодифицированные иммунные клетки контактируют друг с другом. В некоторых вариантах осуществления модифицированные иммунные клетки и немодифицированные иммунные клетки можно совместно культивировать в культуральной планшете, где модифицированные иммунные клетки и немодифицированные иммунные клетки разделены мембраной для трансвел-анализа. В некоторых вариантах осуществления положительный контроль для исследования эффекта

модифицированных иммунных клеток на немодифицированные иммунные клетки включает модифицированные иммунные клетки, которые экспрессируют растворимый цитокин, который может диффундировать и стимулировать соседние клетки вместо слитого белка по настоящему изобретению.

[0204] В некоторых вариантах осуществления модифицированная иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая слитый белок по настоящему изобретению, имеет минимальный цитотоксический эффект на соседние клетки. В некоторых вариантах осуществления модификация иммунной клетки так, чтобы она содержала слитый белок по настоящему изобретению, не является цитотоксической для модифицированной иммунной клетки. В некоторых вариантах осуществления изучают данные РНК-секвенирования модифицированных иммунных клеток для определения, указывает ли повышенная регуляция генов на наличие цитотоксического эффекта.

[0205] В некоторых вариантах осуществления экспрессия слитого белка по настоящему изобретению в модифицированной иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците или дендритной клетке), также содержащей CAR, не снижает целевую эффекторную функцию (например, фагоцитоз, целевую клеточную цитотоксичность, презентацию антигена или секрецию цитокинов) модифицированной иммунной клетки по сравнению с модифицированной иммунной клеткой, содержащей CAR, но не содержащей слитый белок. В некоторых вариантах осуществления экспрессия слитого белка по настоящему изобретению в модифицированной иммунной клетке (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците или дендритной клетке), также содержащей CAR, повышает целевую эффекторную функцию (например, фагоцитоз, целевую клеточную цитотоксичность, презентацию антигена или секрецию цитокинов) модифицированной иммунной клетки по сравнению с модифицированной иммунной клеткой, содержащей CAR, но не содержащей слитый белок.

Цитокины

[0206] В настоящем изобретении предложены слитые белки, содержащие цитокины. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит провоспалительный (M1) цитокин. В некоторых вариантах осуществления провоспалительный цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN- α 1, IFN- α 2, IFN- α 4, IFN- α 5, IFN- α 6, IFN- α 7, IFN- α 8, IFN- α 10, IFN- α 13, IFN- α 14, IFN-

$\alpha 17$, IFN- $\alpha 21$, IFN- β , IFN- ω , IFN- ε или IFN- κ), интерферон типа II (IFN- γ), интерферон типа III (IFN- $\lambda 1$, IFN- $\lambda 2$, IFN- $\lambda 3$ или IFN- $\lambda 4$), TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17, IL-23 или GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит противовоспалительный (M2) цитокин. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительный цитокин представляет собой или содержит IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF- β . В некоторых вариантах осуществления цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN- $\alpha 1$, IFN- $\alpha 2$, IFN- $\alpha 4$, IFN- $\alpha 5$, IFN- $\alpha 6$, IFN- $\alpha 7$, IFN- $\alpha 8$, IFN- $\alpha 10$, IFN- $\alpha 13$, IFN- $\alpha 14$, IFN- $\alpha 16$, IFN- $\alpha 17$, IFN- $\alpha 21$, IFN- β , IFN- ω , IFN- ε или IFN- κ), интерферон типа II (IFN- γ), интерферон типа III (IFN- $\lambda 1$, IFN- $\lambda 2$, IFN- $\lambda 3$ или IFN- $\lambda 4$), TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF- β . В некоторых вариантах осуществления цитокин выбран из **таблицы 1**.

[0207] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокин, содержащий такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин (например, последовательности в **таблице 2a** и **таблице 2b**). В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокин, содержащий сконструированную аминокислотную последовательность (например, последовательности в **таблице 6**). В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность сконструированного цитокина получена из последовательности эндогенного цитокина.

[0208] В некоторых вариантах осуществления сконструированный цитокин представляет собой или содержит кольцевую пермутацию. Кольцевая пермутация является версией белка, в которой секции аминокислот перестроены так, что область аминокислот из середины эндогенного белка теперь находится на N-конце или C-конце, но при этом полученный белок все еще обладает трехмерной формой, сходной с эндогенным белком. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, содержащий кольцевую пермутацию цитокина, характеризуется повышенным связыванием между цитокином и цитокиновым рецептором по сравнению со слитым белком, содержащим цитокин, содержащий такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, содержащий кольцевую пермутацию цитокина, характеризуется повышенной сигнализацией по сравнению со слитым белком, содержащим цитокин, содержащий такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, содержащий кольцевую пермутацию цитокина, содержит более короткий линкер по сравнению со слитым белком, содержащим цитокин, содержащий такую же линейную аминокислотную

последовательность, что и эндогенный цитокин. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит кольцевую пермутацию IL-1 β , IL-4, IL-10 или IL-13.

[0209] В некоторых вариантах осуществления сконструированный цитокин представляет собой или содержит одноцепочечный цитокин. В контексте данного документа одноцепочечный цитокин содержит две или более копий цитокина, слитых вместе. В некоторых вариантах осуществления две или более копий цитокина в одноцепочечном цитокине разделены линкером. В некоторых вариантах осуществления одноцепочечный цитокин позволяет слитому белку по настоящему изобретению имитировать эндогенный цитокин, который действует как мультимер при связывании с цитокиновым рецептором. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одноцепочечный цитокин, содержащий две или более копий IFN- γ , TNF- α , IL-12 или IL-10.

[0210] В некоторых вариантах осуществления сконструированный цитокин представляет собой или содержит мономерный цитокин. В контексте данного документа мономерный цитокин был сконструирован так, чтобы он не должен был мультимеризоваться (например, димеризоваться или тримеризоваться) с целью связывания со своим соответствующим цитокиновым рецептором. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит мономерный цитокин, содержащий сконструированную версию IFN- γ , TNF- α , IL-12 или IL-10.

[0211] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 95 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 2a**, **таблицы 2b** или **таблицы 6**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 96 % идентичную

последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 4а**, **таблицы 4b** или **таблицы 7**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 4а**, **таблицы 4b** или **таблицы 7**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 4а**, **таблицы 4b** или **таблицы 7**.

Линкеры

[0213] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит линкер. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит линкер между цитокином и цитокиновым рецептором. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой гибкий линкер. В некоторых вариантах осуществления гибкий линкер содержит преимущественно небольшие аминокислоты, неполярные (например, серин или треонин) или полярные (например, глицин). В некоторых вариантах осуществления гибкий линкер содержит аминокислотные замены (например, лизина, глутаминовой кислоты, глутамина, аспарагиновой кислоты и/или аспарагина) по сравнению с известным линкером с целью улучшения растворимости линкера. В некоторых вариантах осуществления гибкость линкера определяют, используя спектроскопию кругового дихроизма для исследования, свернут ли линкер в спираль (т. е. жесткую структуру) или неструктурированную (т. е. гибкую) спираль. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит 5–50 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит 19–26 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит 26 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления длина линкера составляет по меньшей мере 90 ангстрем. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит аминокислоты, выбранные из глицина (G), серина (S), треонина (T), лизина (K), пролина (P), глутаминовой кислоты (E), глутамина (Q), аспарагиновой кислоты (D), аспарагина (N) или аланина (A).

[0214] В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой или содержит линкер, выбранный из группы, состоящей из: линкера (G4S)_n, где n = 1–5 (**SEQ ID NO: 170**), линкера Уитлоу и линкера 26.

более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 95 % идентичную последовательности линкера, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 96 % идентичную последовательности линкера, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 97 % идентичную последовательности линкера, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности линкера, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности линкера, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность идентичную последовательности линкера, выбранной из **таблицы 8**.

Цитокиновые рецепторы

[0217] В настоящем изобретении предложены слитые белки, содержащие цитокиновые рецепторы. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит рецептор провоспалительного (M1) цитокина. В некоторых вариантах осуществления рецептор провоспалительного цитокина представляет собой или содержит IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6R α , gp130, IL-12R β 1, IL-12R β 2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-R α или CSF2-R β . В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит рецептор противовоспалительного (M2) цитокина. В некоторых вариантах осуществления рецептор противовоспалительного цитокина представляет собой или содержит IL-4R α , IL-4R α 1, IL-2R γ c, IL-10R1, IL-10R2, IL-13R α 1, IL-18R α , IL-18R β , CSF1-R, TGF- β R1 или TGF- β R2. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6R α , gp130, IL-12R β 1, IL-12R β 2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-R α , CSF2-R β , IL-4R α , IL-4R α 1, IL-2R γ c, IL-10R1, IL-10R2, IL-13R α 1, IL-18R α , IL-18R β , CSF1-R, TGF- β R1 или TGF- β R2.

[0218] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокиновый рецептор, содержащий такую же линейную аминокислотную последовательность, что и эндогенный цитокин (например, последовательности в **таблице 3a** и **таблице 3b**). В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокиновый рецептор, содержащий сконструированную аминокислотную последовательность. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность сконструированного цитокина получена из последовательности эндогенного цитокина.

[0219] Многие цитокины, включая IFN- β и IL-10, осуществляют сигнализацию через гетеродимерные рецепторные комплексы. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокин и любую субъединицу цитокинового рецептора (смотрите **таблицу 1**). В некоторых вариантах осуществления цитокин по настоящему изобретению связывается с субъединицей своего рецептора (субъединицей рецептора, включенной в цитокин в слитом белке), а затем рекрутирует эндогенно экспрессируемую вторую субъединицу рецептора. Например, слитый белок, содержащий IFN- β и IFNAR-1, будет рекрутировать эндогенный IFNAR-2. В альтернативном варианте, слитый белок, содержащий IFN- β и IFNAR-2, будет рекрутировать эндогенный IFNAR-1. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит цитокин и обе субъединицы рецептора (например, цитокин, выбранный из **таблицы 1**, и оба из рецептора 1 и рецептора 2 из того же ряда в **таблице 1**). В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению, содержащий цитокин и обе субъединицы рецептора, дополнительно содержит расщепляемый линкер между субъединицами рецептора.

[0220] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 3a** или **таблицы 3b**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 3a** или **таблицы 3b**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 3a** или **таблицы 3b**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 95 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 3a** или **таблицы 3b**. В

содержащими последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 5a** или **таблицы 5b**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 5a** или **таблицы 5b**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность идентичную последовательности, выбранной из **таблицы 5a** или **таблицы 5b**.

Сигнальные пептиды

[0222] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит сигнальный пептид на N-конце. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая сигнальный пептид, содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид представляет собой или содержит сигнальный пептид человека. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид по настоящему изобретению получен из мембраноэкспрессируемого или секретируемого белка. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид по настоящему изобретению получен из мембраноэкспрессируемого или секретируемого цитокина. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид представляет собой или содержит любой сигнальный пептид, который приводит к локализации сконструированного белка на клеточной мембране. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит сигнальный пептид CD8.

[0223] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 85 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит

более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 97 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 98 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность по меньшей мере на 99 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению кодируется одной или более нуклеиновыми кислотами, содержащими последовательность идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из **таблицы 8**.

Химерные антигенные рецепторы (CAR)

[0225] В контексте данного документа термин «химерный антигенный рецептор» или «CAR» относится к искусственному рецептору клеточной поверхности, который сконструирован для экспрессии на иммунной эффекторной клетке и специфически нацеливается на клетку и/или связывает антиген. CAR можно использовать, например, в качестве терапии с адоптивным переносом клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты и/или дендритные клетки) выделяют из организма пациента (например, из крови, опухоли или асцитной жидкости) и модифицируют таким образом, чтобы они экспрессировали рецептор, специфический в отношении конкретной формы антигена. В некоторых вариантах осуществления такие модифицированные иммунные клетки затем повторно вносят в организм того же или отличного субъекта в качестве терапевтических средств. В некоторых вариантах осуществления CAR экспрессировали со специфичностью к антигену, например опухолеассоциированному антигену. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен.

[0226] В некоторых вариантах осуществления модифицированную иммунную клетку, например, модифицированные стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, создают посредством экспрессии в них CAR. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка содержит CAR, содержащий внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен, при этом иммунная клетка включает стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку.

[0227] В некоторых вариантах осуществления CAR может дополнительно содержать одно или более из: одного или более внеклеточных лидерных доменов, одного или более внеклеточных шарнирных доменов и одного или более внутриклеточных костимулирующих доменов.

[0228] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит спейсерный домен или шарнирную область между внутриклеточным доменом и трансмембранным доменом. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит спейсерный домен или шарнирную область между внутриклеточным доменом и трансмембранным доменом. В контексте данного документа термин «спейсерный домен» или «шарнирная область» относится к любому олиго- или полипептиду, функция которого заключается в связывании трансмембранного домена либо с внеклеточным доменом, либо с внутриклеточным доменом в полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления спейсерный домен или шарнирная область могут содержать до 300 аминокислот, предпочтительно от 10 до 100 аминокислот и наиболее предпочтительно от 25 до 50 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления короткий олиго- или полипептидный линкер, предпочтительно длиной от 2 до 10 аминокислот, может образовывать связь между трансмембранным доменом и внутриклеточным доменом CAR. Пример линкера включает дублет глицин-серин.

[0229] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка), содержащая CAR, может содержать одну или более систем контроля, включая, но не ограничиваясь этим: переключатель безопасности (например, включатель, выключатель, суицидный переключатель), логический элемент, например, логический элемент И (например, два или более CAR, в каждом из которых отсутствует один или более сигнальных доменов так, что активация обоих/всех CAR необходима для полной активации или функционирования иммунной клетки (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки)), логический элемент ИЛИ (например, два или более CAR, каждый с внутриклеточным доменом, таким как CD3 ζ , и костимулирующим доменом) и/или логический элемент НЕТ (например, два или более CAR, один из которых содержит ингибирующий домен, который антагонизирует функцию другого(их) CAR).

[0230] В настоящем изобретении также предложены иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), содержащие последовательность нуклеиновой кислоты (например, выделенную последовательность нуклеиновой кислоты), кодирующую CAR, при этом последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внеклеточный

домен, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую трансмембранный домен, и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный домен, при этом клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, которая экспрессирует CAR.

[0231] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит внеклеточный домен, который функционально связан с другим доменом CAR, таким как трансмембранный домен или внутриклеточный домен, для экспрессии в иммунной клетке. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая внеклеточный домен, функционально связана с нуклеиновой кислотой, кодирующей трансмембранный домен, а нуклеиновая кислота, кодирующая трансмембранный домен, функционально связана с нуклеиновой кислотой, кодирующей внутриклеточный домен.

[0232] В некоторых вариантах осуществления эффекторная активность иммунной клетки, содержащей CAR, направлена против клетки-мишени, содержащей антиген, который специфически связывается с антигенсвязывающим доменом CAR. В некоторых вариантах осуществления целевая эффекторная активность, направленная против клетки-мишени, представляет собой или включает фагоцитоз, направленную клеточную цитотоксичность, презентацию антигена или секрецию цитокинов.

[0233] В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, содержит по меньшей мере один домен (например, внеклеточный домен, трансмембранный домен и/или внутриклеточный домен), который ингибирует антифагоцитарную сигнализацию в иммунной клетке, описанной в данном документе (например, стволовой клетке, макрофаге, моноците или дендритной клетке). В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, повышает эффекторную активность иммунной клетки, описанной в данном документе (например, стволовой клетки, макрофага, моноцита или дендритной клетки), например, путем усиления ингибирования активности CD47 и/или SIRP α . В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, связывает CD47, например, и служит в качестве доминантно-отрицательного рецептора, ингибируя активность SIRP α (например, приемник CD47). В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, который связывает SIRP α , например, содержит активирующий рецептор (например, содержит внутриклеточный домен CD3z). В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, ингибирует по меньшей мере одно взаимодействие CD47 и SIRP α . В некоторых вариантах осуществления CAR представляет собой фагоцитарный логический элемент или содержит его.

[0234] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в данном документе (например, содержащая или экспрессирующая экзогенный цитокин, слитый белок и/или CAR, описанные в данном документе), содержит или экспрессирует по меньшей мере один вариант или фрагмент из: SIRP α (например, доминантно-отрицательный SIRP α или сконструированный высокоаффинный вариант SIRP α (например, CV1)), scFv 5F9, scFv B6H12 (например, гуманизированный scFv B6H12), PD1 (например, доминантно-отрицательный PD1 или HАC-I), анти-PD1 scFv (например, E27 или дурвалумаб), Siglec-10, Siglec-9, Siglec-11 и/или SHP-1. В некоторых вариантах осуществления вариант или фрагмент содержит мутированный внутриклеточный домен. В некоторых вариантах осуществления вариант или фрагмент не содержит или не экспрессирует по меньшей мере один внутриклеточный домен (например, иммунная клетка содержит или экспрессирует анти-CD47 scFv, шарнирный домен CD8 и трансмембранный домен CD8). В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в данном документе (например, содержащая или экспрессирующая экзогенный цитокин, слитый белок и/или CAR, описанные в данном документе), содержит доминантно-отрицательный рецептор, например, блокирующий ингибирующую контрольную точку.

[0235] В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, дополнительно содержит расщепляемый пептид (например, пептид P2A, F2A, E2A и/или T2A) и по меньшей мере один второй CAR, содержащий по меньшей мере один ингибирующий домен антифагоцитарной передачи сигнала. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один второй CAR содержит SIRP α (например, сконструированный высокоаффинный вариант SIRP α (например, CV1)), scFv 5F9, scFv B6H12 (например, гуманизированный scFv B6H12) или CD47-связывающий внеклеточный домен, или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один второй CAR содержит трансмембранный домен SIRP α или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления второй CAR дополнительно содержит шарнирный домен (например, шарнирный домен CD8). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один второй CAR содержит: (i) лидерную последовательность (например, лидерную последовательность CD8); ii) внеклеточный домен (например, внеклеточный домен SIRP α , CV1, scFv 5F9 или scFv B6H12 (например, гуманизированный scFv B6H12)) и ii) трансмембранный домен (например, трансмембранный домен SIRP α). В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, дополнительно содержит расщепляемый пептид (например, пептид P2A) и по меньшей мере один маркерный белок (например, CD20 или его фрагмент, CD19 или его фрагмент, NGFR или его фрагмент, синтетический пептид и/или флуоресцентный белок).

[0236] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в данном документе (например, содержащая или экспрессирующая экзогенный цитокин, слитый белок и/или CAR, описанные в данном документе), содержит или экспрессирует один или более неактивных доменов фосфатазы (например, неактивную фосфатазу Shp1, неактивную фосфатазу 72-5p-тазу (INPP5E), неактивную фосфатазу Shp2 и/или неактивный домен фосфатазы SHIP-1) и/или конститутивно активный домен киназы (например, конститутивно активный домен LYN). В некоторых вариантах осуществления CAR, описанный в данном документе, дополнительно содержит расщепляемый пептид (например, пептид P2A, F2A, E2A и/или T2A) и один или более неактивных доменов фосфатазы (например, неактивную фосфатазу Shp1, неактивную фосфатазу 72-5p-тазу (INPP5E), неактивную фосфатазу Shp2 и/или неактивный домен фосфатазы SHIP-1) и/или конститутивно активный домен киназы (например, конститутивно активный домен LYN).

Внеклеточные домены

[0237] В настоящем изобретении предложены химерные антигенные рецепторы (CAR), содержащие внеклеточные домены. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит внеклеточный домен Fc-рецептора (FcR). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит внеклеточный домен толл-подобного рецептора (TLR). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит лидерный домен. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит антигенсвязывающий домен. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит шарнирный домен. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен содержит один или более из внеклеточного домена FcR, внеклеточного домена TLR, лидерного домена, антигенсвязывающего домена и шарнирного домена. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе).

Внеклеточные домены FcR

[0238] В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR содержит полноразмерный внеклеточный домен FcR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR содержит часть полноразмерного внеклеточного домена FcR. В

некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR (или его часть) представляет собой или содержит внеклеточный домен FcR человека. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR содержит CD64 (FcγRI), CD32a (FcγRIIa), CD32b (FcγRIIb), CD32c, CD16a (FcγRIIIa), CD16b (FcγRIIIb), FcεRI, FcεRII или FcαRI (CD89).

Внеклеточные домены TLR

[0239] В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен TLR содержит полноразмерный внеклеточный домен TLR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный TLR содержит часть полноразмерного внеклеточного домена TLR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен TLR (или его часть) представляет собой или содержит внеклеточный домен TLR человека. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен TLR может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен TLR может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен TLR содержит домен TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 или TLR9.

Лидерные домены

[0240] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более внеклеточных лидерных доменов. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая CAR, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую внеклеточный лидерный домен, но внеклеточный лидерный домен отщепляется от CAR до того, как CAR экспрессируется в иммунной клетке. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный лидерный домен представляет собой внеклеточный лидерный домен человека или содержит его. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный лидерный домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной

иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный лидерный домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный лидерный домен содержит внеклеточный лидерный домен CD8. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный лидерный домен содержит лидерный домен из стимулирующего или костимулирующего домена (например, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, ALK, AXL, DDR2, EGFR, EphA1, INSR, cMET, MUSK, PDGFR, PTK7, RET, ROR1, ROS1, RYK, TIE2, TRK, VEGFR, CD40, CD19, CD20, 41BB, CD28, OX40, GITR, TREM-1, TREM-2, DAP12, MR, ICOS, домен MyD88).

Антигенсвязывающие домены

[0241] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, например, на клетке-мишени. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антигенсвязывающий домен, который связывается с антигеном, связанным с вирусной инфекцией, бактериальной инфекцией, паразитарной инфекцией, аутоиммунным заболеванием и/или раковыми клетками. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен распознает антиген, который действует как маркер клеточной поверхности на клетке-мишени, связанной с конкретным болезненным состоянием.

[0242] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с опухолевым антигеном, таким как антиген, специфический в отношении представляющих интерес опухоли или рака. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген содержит один или более антигенных эпитопов рака. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген содержит: CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (также называемый подгруппой 1 CD2, CRACC, SLAMF7, CD319 и 19A24); молекулу-1, подобную лектину С-типа (CLL-1 или CLECL1); CD33; вариант III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII); ганглиозид G2 (GD2); ганглиозид GD3 (aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); член семейства рецепторов TNF антиген созревание В-клеток (BCMA); антиген Tn ((Tn Ag) или (GalNAc α -Ser/Thr)); простатспецифический мембранный антиген (PSMA); орфанный рецептор 1 типа рецепторной тирозинкиназы (ROR1); Fms-подобную тирозинкиназу 3 (FLT3); опухолеассоциированный гликопротеин 72 (TAG72); CD38; CD44v6; раково-эмбриональный антиген (CEA); молекулу адгезии эпителиальных клеток (EPCAM); B7H3

(CD276); KIT (CD117); субъединицу альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелин; субъединицу альфа рецептора интерлейкина-11 (IL-11Ra); антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновую протеазу 21 (тестизин или PRSS21); рецептор фактора роста эндотелия сосудов 2 (VEGFR2); антиген Льюиса (Y); CD24; бета-рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFR-бета); специфический в отношении стадии развития эмбриональный антиген-4 (SSEA-4); CD20; фолатный рецептор альфа; рецептор тирозинпротеинкиназы ERBB2 (Her2/neu); муцин 1, связанный с клеточной поверхностью (MUC1); рецептор эпидермального фактора роста (EGFR); молекулу адгезии нервных клеток (NCAM); простазу; кислую фосфатазу предстательной железы (PAP); мутированный фактор элонгации 2 (ELF2M); эфрин B2; белок активации фибробластов альфа (FAP); рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептор IGF-I), карбоангидразу IX (CAIX); субъединицу протеасомы (просома, макропаин), бета-тип, 9 (LMP2); гликопротеин 100 (gp100); слитый белок онкогена, состоящий из кластерной области точки разрыва (BCR) и гомолог 1 вирусного онкогена мышинового лейкоза Абельсона (Abl) (bcr-abl); тирозиназу; рецептор 2 эфрина типа A (EphA2); фукозил GM1; сиалиловую молекулу адгезии Льюиса (sLe); ганглиозид GM3 (aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlc(1-1)Cer); трансглутаминазу 5 (TGS5); высокомолекулярный антиген, ассоциированный с меланомой (HMWMAA); о-ацетил-GD2 ганглиозид (OAcGD2); бета-рецептор фолиевой кислоты; эндотелиальный маркер опухоли 1 (TEM1/CD248); связанный с опухолевым эндотелиальным маркером 7 (TEM7R); клаудин 6 (CLDN6); рецептор тиреотропного гормона (TSHR); рецептор, связанный с G-белком, класс C, группа 5, член D (GPRC5D); хромосому X открытой рамки считывания 61 (CXORF61); CD97; CD179a; киназу анапластической лимфомы (ALK); полисиаловую кислоту; плацентарный белок 1 (PLAC1); гексасахаридную часть гликоцерамида globoH (GloboH); антиген дифференцировки молочной железы (NY-BR-1); уроплакин 2 (UPK2); клеточный рецептор вируса гепатита A 1 (HAVCR1); адренорецептор бета 3 (ADRB3); паннексин 3 (PANX3); рецептор, связанный с G-белком 20 (GPR20); комплекс антигена 6 лимфоцитов, локус K 9 (LY6K); обонятельный рецептор 51E2 (OR51E2); белок ТКР гамма с альтернативной рамкой считывания (TARP); белок опухоли Вильмса (WT1); антиген 1 рака/яичек (NY-ESO-1); антиген 2 рака/яичек (LAGE-1a); ассоциированный с меланомой антиген 1 (MAGE-A1); ген 6 транслокационного варианта ETS, расположенный на хромосоме 12p (ETV6-AML); белок спермы 17 (SPA17); член 1A семейства антигенов X (XAGE1); рецептор 2 клеточной поверхности, связывающий ангиопоэтин (Tie 2); антиген-1 меланомы рака яичка (MAD-CT-1); антиген-2 меланомы рака яичка (MAD-CT-2); Fos-родственный антиген 1; опухолевый белок p53 (p53); мутант p53; простаин; сурвивин; теломеразу; опухолевый антиген-1

карциномы предстательной железы (PSTA-1 или галектин 8), антиген 1 меланомы, распознаваемый Т-клетками (MelanA или MART1); мутант саркомы крыс (Ras); обратную транскриптазу теломеразы человека (hTERT); точки разрыва транслокации саркомы; меланомный ингибитор апоптоза (ML-IAP); ERG (слитый ген ETS трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2)); N-ацетилглюкозаминилтрансфераза V (NA17); парный бокс-белок Pax-3 (PAX3); рецептор андрогена; циклин B1; гомолог белка, полученного из нейробластомы, вызванной вирусным онкогеном птичьего миелоцитоматоза v-мус (MYCN); семейство гомолога Ras, член C (RhoC); белок 2, родственник тирозиназе (TRP-2); цитохром P450 1B1 (CYP1B1); CCCTC-связывающий фактор (белок цинкового пальца)-подобный белок (BORIS или брат регулятора сайтов импринтинга), антиген плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками 3 (SART3); парный белок-бокс Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающий белок sp32 (OY-TES1); специфическую в отношении лимфоцитов протеинтирозинкиназу (LCK); киназный якорный белок 4 (AKAP-4); точку разрыва X 2 (SSX2) синовиальной саркомы; рецептор для конечных продуктов продвинутого гликирования (RAGE-1); почечный убиквитин 1 (RU1); почечный убиквитин 2 (RU2); легумаин; вирус папилломы человека E6 (ВПЧ E6); вирус папилломы человека E7 (ВПЧ E7); кишечную карбоксилэстеразу; мутированный белок теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; лейкоцит-ассоциированный иммуноглобулин-подобный рецептор 1 (LAIR1); Fc-фрагмент рецептора IgA (FCAR или CD89); член 2 подсемейства A лейкоцитарного иммуноглобулиноподобного рецептора (LILRA2); член f семейства подобного молекуле CD300 (CD300LF); член A семейства 12 лектиновых доменов C-типа (CLEC12A); антиген 2 стромальных клеток костного мозга (BST2); EGF-подобный модуль, содержащий муциноподобный гормональный рецептор, подобный 2 (EMR2); лимфоцитарный антиген 75 (LY75); глипикан-3 (GPC3); Fc-рецептор-подобный 5 (FCRL5) или иммуноглобулин-лямбда-подобный полипептид 1 (IGLL1). В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген включает ERBB2 (Her2/neu). В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген включает PSMA. В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген включает мезотелин.

[0243] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с неправильно свернутым белком-антигеном или белком белкового агрегата, таким как белок, специфический в отношении представляющего интерес заболевания/расстройства. В некоторых вариантах осуществления заболевание/расстройство представляет собой нейродегенеративное заболевание/расстройство, воспалительное заболевание/расстройство, сердечно-сосудистое заболевание/расстройство, фиброзное заболевание/расстройство или амилоидоз

(например, опосредованный белковыми агрегатами легких цепей иммуноглобулина или транстиретина). В некоторых вариантах осуществления нейродегенеративное заболевание/расстройство выбрано из группы, состоящей из таупатии, асинуклеопатии, пресенильной деменции, старческого слабоумия, болезни Альцгеймера (опосредуется белковыми агрегатами бета-амилоида), Паркинсонизма, связанного с хромосомой 17 (FTDP-17), прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), болезни Пика, первично-прогрессирующей афазии, лобно-височной деменции, кортико-базальной деменции, болезни Паркинсона, болезни Паркинсона с деменцией, деменции с тельцами Леви, синдрома Дауна, множественной системной атрофии, бокового амиотрофического склероза (БАС), синдрома Халлервордена — Шпатца, полиглутаминовой болезни, болезни тринуклеотидных повторов, семейной деменции британского типа, фатальной семейной бессонницы, синдрома Герстмана — Штраусслера — Шайнкера, наследственного кровоизлияния в мозг с амилоидозом (исландский тип) (HCHW A-I), спорадической фатальной бессонницы (сФБ), вариабельной протеазо-чувствительной прионопатии (ВПЧПр), семейной деменции датского типа и прионной болезни (например, болезни Крейтцфельдта — Якоба, БКЯ и вариантной болезни Крейтцфельдта-Якоба (вБКЯ)).

[0244] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен содержит любой домен, который связывается с антигеном. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен представляет собой или включает моноклональное антитело, поликлональное антитело, синтетическое антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело, нечеловеческое антитело или любой их фрагмент, например, scFv. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен представляет собой или включает аптамер, дарпин, центрин, встречающийся в природе или синтетический рецептор, аффитело или другую сконструированную молекулу распознавания белка. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен представляет собой или включает антитело млекопитающего или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен полностью или частично получен от того же вида, в связи с которым в конечном итоге будет использоваться CAR. Например, для применения у людей антигенсвязывающий домен CAR включает человеческое антитело, гуманизированное антитело или их фрагмент (например, scFv). В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен может быть доменом, который не

является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе).

[0245] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более антигенсвязывающих доменов. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит два или более антигенсвязывающих доменов. В некоторых вариантах осуществления CAR представляет собой биспецифический CAR. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка содержит два или более различных CAR, содержащих один или более антигенсвязывающих доменов. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, содержащая биспецифический CAR и/или содержащая два или более различных CAR, содержащих один или более антигенсвязывающих доменов, может снижать нецелевые и/или целевые внеклеточные эффекты за счет необходимости присутствия двух антигенов. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка содержит биспецифический CAR и/или содержит два или более различных CAR, содержащих один или более антигенсвязывающих доменов, при этом CAR обеспечивают различные сигналы, которых по отдельности недостаточно для активации модифицированной клетки, но вместе они синергичны, стимулируя активацию модифицированной клетки. В некоторых вариантах осуществления такая конструкция может называться логическим элементом «AND».

[0246] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, содержащая биспецифический CAR и/или содержащая два или более разных CAR, содержащих один или более антигенсвязывающих доменов, может снижать нецелевые и/или целевые внеклеточные эффекты за счет необходимости, чтобы один антиген присутствовал, а второй, нормальный белковый антиген, отсутствовал до стимуляции активности клетки. В некоторых вариантах осуществления такая конструкция может называться логическим элементом «NOT». В отличие от логических элементов AND, CAR-модифицированные клетки с логическим элементом NOT активируются путем связывания с одним антигеном. Однако связывание второго рецептора со вторым антигеном действует так, что подавляет активирующий сигнал, поддерживаемый посредством CAR. Как правило, такой ингибирующий рецептор нацелен на антиген, который обильно экспрессируется в нормальной ткани, но отсутствует в опухолевой ткани.

Шарнирные домены

[0247] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более внеклеточных шарнирных доменов. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный шарнирный домен представляет собой внеклеточный шарнирный домен человека или содержит его. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный шарнирный домен

может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внеклеточный шарнирный домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления один или более внеклеточных шарнирных доменов содержат внеклеточный шарнирный домен CD8a или внеклеточный шарнирный домен IgG4 или CD28. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный шарнирный домен оптимизирует физико-химические параметры CAR, например, оптимальный размер по отношению к опухолевому антигену (например, позволяет исключить ингибирующие молекулы), оптимальную гибкость, оптимальную укладку белка, оптимальную стабильность белка, оптимальное связывание, оптимальную гомодимеризацию и/или отсутствие гомодимеризации.

Трансмембранные домены

[0248] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит трансмембранный домен, например, который соединяет внеклеточный домен с внутриклеточным доменом. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен естественным образом связан с одним или более другими доменами CAR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен можно модифицировать, чтобы избежать связывания с трансмембранными доменами других поверхностных мембранных белков, чтобы свести к минимуму взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен может быть получен либо из природного, либо из синтетического источника. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен получают из встречающегося в природе связанного с мембраной или трансмембранного белка. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен человека или содержит его. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен содержит CD8a, CD64, CD32a, CD32c,

CD16a, TRL1, TLR2, TLR3, TRL4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, ALK, AXL, DDR2, EGFR, EphA1, INSR, cMET, MUSK, PDGFR, PTK7, RET, ROR1, ROS1, RYK, TIE2, TRK, VEGFR, CD40, CD19, CD20, 41BB, CD28, OX40, GITR, TREM-1, TREM-2, DAP12, MR, ICOS, MyD88, CD3-zeta, FcR γ , V/I/LxYxxL/V, SIRP α , CD45, Siglec-10, PD1, SHP-1, SHP-2, KIR-2DL, KIR-3DL, NKG2A, CD170, CD33, BTLA, CD32b, SIRP β , CD22, PIR-B, LILRB1, CD36 или трансмембранный домен Syk.

Трансмембранные домены FcR

[0249] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR содержит полноразмерный внеклеточный домен FcR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR содержит часть полноразмерного внеклеточного домена FcR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR представляет собой или содержит трансмембранный домен FcR человека или его часть. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR содержит CD64 (Fc γ RI), CD32a (Fc γ RIIa), CD32b (Fc γ RIIb), CD32c, CD16a (Fc γ RIIIa), CD16b (Fc γ RIIIb), Fc ϵ RI, Fc ϵ RII или Fc α RI (CD89).

Трансмембранные домены TLR

[0250] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен TLR содержит полноразмерный трансмембранный домен TLR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный TLR содержит часть полноразмерного трансмембранного домена TLR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен TLR представляет собой или содержит трансмембранный домен TLR человека или его часть. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен TLR может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен TLR может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых

вариантах осуществления трансмембранный домен TLR содержит домен TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 или TLR9.

Внутриклеточные домены

[0251] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более внутриклеточных доменов. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен представляет собой или содержит внутриклеточный домен человека или его часть. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен и/или другой цитоплазматический домен CAR отвечает за активацию клетки, в которой экспрессируется CAR (например, иммунной клетки). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR отвечает за активацию и/или передачу сигнала в иммунной клетке, содержащей указанный CAR.

[0252] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR содержит по меньшей мере один домен, ответственный за активацию и/или передачу сигнала. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен представляет собой или содержит по меньшей мере одну костимулирующую молекулу и сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR содержит двойные сигнальные домены. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR содержит более двух сигнальных доменов.

[0253] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен содержит цитоплазматическую часть поверхностного рецептора. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен содержит костимулирующую молекулу. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен содержит молекулу, которая инициирует передачу сигнала в иммунной клетке.

[0254] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR содержит любую часть одной или более костимулирующих молекул, например, по меньшей мере один сигнальный домен из CD3, гамма-цепи Fc-эпсилон RI, любое их производное или

вариант, любую их синтетическую последовательность, обладающую такой же функциональной способностью, и любую их комбинацию.

Внутриклеточные домены FcR

[0255] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR содержит полноразмерный внутриклеточный домен FcR. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR содержит часть полноразмерного внутриклеточного домена FcR. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR представляет собой или содержит внутриклеточный домен FcR человека или его часть. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR содержит CD64 (FcγRI), CD32a (FcγRIIa), CD32b (FcγRIIb), CD32c, CD16a (FcγRIIIa), CD16b (FcγRIIIb), FcεRI, FcεRII или FcαRI (CD89).

Внутриклеточные домены TLR

[0256] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен TLR содержит полноразмерный внутриклеточный домен TLR. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный TLR содержит часть полноразмерного внутриклеточного домена TLR. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен TLR представляет собой или содержит внутриклеточный домен TLR человека или его часть. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен TLR может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен TLR может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен TLR содержит домен TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 или TLR9.

Сигнальные домены

[0257] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более внутриклеточных сигнальных доменов. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен представляет собой или содержит внутриклеточный сигнальный домен человека или его часть. В некоторых вариантах осуществления сигнальный домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления сигнальный домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе).

[0258] В некоторых вариантах осуществления один или более внутриклеточных сигнальных доменов содержат CD3-дзета, FcR γ , CD64, CD32a, CD32c, CD16a, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, ALK, AXL, DDR2, EGFR, EphA1, INSR, cMET, MUSK, PDGFR, PTK7, RET, ROR1, ROS1, RYK, TIE2, TRK, VEGFR, CD40, CD19, CD20, 41BB, CD28, OX40, GITR, TREM-1, TREM-2, DAP12, MR, ICOS, MyD88, V/I/LxYxxL/V, SIRP α , CD45, Siglec-10, PD1, SHP-1, SHP-2, KIR-2DL, KIR-3DL, NKG2A, CD170, CD33, BTLA, CD32b, SIRP β , CD22, PIR-B, LILRB1, Syk, лиганд 41BB (41BBL; TNFSF9), CD27, OX40L, CD32b, CD11b, ITGAM, SLAMF7, CD206, CD163, CD209, дектин-2 или один или более сигнальных доменов цитокинового рецептора (например, IL1R, IL2R, IL3R, IL4R, IL5R, IL6R, IL7R, IL8R, IL9R, IL10R, IL11R, IL12R, IL13R, IL14R, IL15R, IL17R, IFN α R, IFN γ R, TNFR, CSF1R, CSF2R, Dap10, CD36, дектин-1 или внутриклеточный сигнальный домен ICOSL).

[0259] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен CAR содержит двойные сигнальные домены, такие как 41BB, CD28, ICOS, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, бета-цепь рецептора CD116, CSF1R, LRP1/CD91, SR-A1, SR-A2, MARCO, SR-CL1, SR-CL2, SR-C, SR-E, CR1, CR3, CR4, дектин-1, DEC-205, DC-SIGN, CD14, CD36, LOX-1, CD11b, вместе с любым из сигнальных доменов, перечисленных в предыдущем параграфе, в любой комбинации.

Костимулирующие домены

[0260] В контексте данного документа термин «костимулирующая молекула» или «костимулирующий домен» относится к молекуле в иммунной клетке, которая используется для усиления или ослабления первоначального стимула. Например, ассоциированные с патогенами паттерн-распознающие рецепторы, такие как ось TLR или CD47/SIRP α , представляют собой молекулы на иммунных клетках, которые, соответственно, усиливают или ослабляют первоначальный стимул. В некоторых

вариантах осуществления костимулирующий домен содержит ТКР, CD3 дзета, CD3 гамма, CD3 дельта, CD3 эpsilon, CD86, общий FcR гамма, FcR бета (Fc эpsilon R1b), CD79a, CD79b, Fc гамма RIIa, DAP10, DAP12, Т-клеточный рецептор (ТКР), CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, ассоциированный с функцией лимфоцитов (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, В7-Н3, лиганд, который специфически связывается с CD83, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), CD127, CD160, CD19, CD4, CD8 альфа, CD8 бета, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, другие костимулирующие молекулы, описанные в данном документе, любое их производное, вариант или фрагмент, любую синтетическую последовательность костимулирующей молекулы, обладающую такой же функциональной способностью, и любые их комбинации.

[0261] В некоторых вариантах осуществления костимулирующий домен может быть доменом, который является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе). В некоторых вариантах осуществления костимулирующий домен может быть доменом, который не является эндогенным для определенного типа иммунной клетки (например, модифицированной иммунной клетки, предложенной в данном документе).

[0262] В контексте данного документа термин «костимулирующий сигнал» относится к сигналу, который в сочетании с первичным сигналом, таким как активация CAR на иммунной клетке, приводит к активации иммунной клетки.

Пептиды расщепления

[0263] В контексте данного документа термин пептид расщепления относится к пептиду, который может индуцировать расщепление рекомбинантного белка в клетке. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепления представляет собой пептид 2A. В некоторых вариантах осуществления пептид расщепления представляет собой или содержит пептид P2A, F2A, E2A или T2A. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, описанная в данном документе, содержит одну или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих один или более пептидов

расщепления. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую пептид расщепления, также содержит одну или более последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих один или более внутриклеточных доменов, и одну или более последовательностей нуклеиновой кислоты, содержащих один или более пептидных агентов, при этом трансляция нуклеиновой кислоты приводит к получению белка, содержащего один или более внутриклеточных доменов, отделенных от одного или более пептидных агентов пептидом расщепления. В некоторых вариантах осуществления первый промотор функционально связан с одной или более нуклеиновыми кислотами, кодирующими CAR, а второй промотор функционально связан с одной или более нуклеиновыми кислотами, кодирующими пептидный агент. В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, содержащая CAR и, необязательно, один или более пептидных агентов, дополнительно содержит последовательность сайта внутренней посадки рибосомы (IRES). Последовательность IRES может представлять собой любую вирусную, хромосомную или искусственно созданную последовательность, которая инициирует кэп-независимое связывание рибосомы с мРНК, способствуя инициации трансляции.

Пептидные агенты

[0264] В контексте данного документа термин «пептидный агент» относится к пептиду, коэкспрессируемому с CAR в иммунной клетке. В некоторых вариантах осуществления пептидный агент коэкспрессируется с CAR для обеспечения стехиометрического баланса и оптимальной передачи сигналов CAR. В некоторых вариантах осуществления пептидный агент образует гомодимер с идентичным пептидным агентом. В некоторых вариантах осуществления пептидный агент образует гетеродимер с другим пептидным агентом. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, описанная в данном документе, содержит одну или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих один или более пептидных агентов. В некоторых вариантах осуществления пептидный агент представляет собой гамма-цепь FcR или содержит ее.

[0265] В некоторых вариантах осуществления пептидный агент содержит любой пептид, белок, рецептор, секретируемое антитело или его фрагмент (например, scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc или нанотело). В некоторых вариантах осуществления пептидный агент содержит один или более цитокинов (например, один или более из IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN α , IFN β , IFN- γ , GM-CSF или M-CSF), CD40-L, доминантно-отрицательный SIRP α ,

доминантно-отрицательный PD1, доминантно-отрицательный CD45, доминантно-отрицательный SIGLEC 10 или доминантно-отрицательный LILRB.

Fc-рецепторы (FcR)

[0266] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более антигенсвязывающих доменов и внеклеточный домен FcR, и/или трансмембранный домен CAR содержит трансмембранный домен FcR, и/или внутриклеточный домен CAR содержит внутриклеточный домен FcR. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит от N-конца к C-концу один или более внеклеточных связывающих доменов, внеклеточный домен FcR, трансмембранный домен FcR и внутриклеточный домен FcR. В некоторых вариантах осуществления один или более из внеклеточного домена FcR, трансмембранного домена FcR и внутриклеточного домена FcR представляет собой или содержит домен FcR человека. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR, трансмембранный домен FcR и внутриклеточный домен FcR вместе составляют полноразмерный FcR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR, трансмембранный домен FcR и внутриклеточный домен FcR вместе составляют часть полноразмерного FcR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен FcR содержит часть полноразмерного внеклеточного домена FcR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен FcR содержит часть полноразмерного внеклеточного домена FcR. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен FcR содержит часть полноразмерного внутриклеточного домена FcR.

Toll-подобные антигенные рецепторы (TLR)

[0267] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит один или более антигенсвязывающих доменов и внеклеточный домен Toll-подобного рецептора (TLR), и/или трансмембранный домен CAR содержит трансмембранный домен TLR, и/или внутриклеточный домен CAR содержит TLR внутриклеточный домен. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит от N-конца к C-концу один или более внеклеточных связывающих доменов, внеклеточный домен TLR, трансмембранный домен TLR и внутриклеточный домен TLR. В некоторых вариантах осуществления один или более из внеклеточного домена TLR, трансмембранного домена TLR и внутриклеточного домена TLR представляет собой или содержит домен TLR человека. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен TLR, трансмембранный домен TLR и внутриклеточный домен TLR вместе составляют полноразмерный TLR. В некоторых

вариантах осуществления внеклеточный домен TLR, трансмембранный домен TLR и внутриклеточный домен TLR вместе составляют часть полноразмерного TLR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный TLR содержит часть полноразмерного внеклеточного домена TLR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный TLR содержит часть полноразмерного трансмембранного домена TLR. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный TLR содержит часть полноразмерного внутриклеточного домена TLR.

Конструкции нуклеиновых кислот

[0268] В настоящем изобретении предложены, помимо прочего, молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, или его фрагмент. В настоящем изобретении предложены, помимо прочего, молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие по меньшей мере один экзогенный слитый белок, описанный в данном документе, или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предложены молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие по меньшей мере один CAR, описанный в данном документе, или его фрагмент. Иммунная клетка (например, стволовая клетка, макрофаг, моноцит или дендритная клетка) может содержать молекулу нуклеиновой кислоты (например, экзогенную молекулу нуклеиновой кислоты), кодирующую по меньшей мере один белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению), описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая по меньшей мере один слитый белок, содержит цитокин и цитокиновый рецептор.

[0269] Если не указано иное, «нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность» включает все нуклеотидные последовательности, которые являются вырожденными версиями друг друга и которые кодируют одну и ту же аминокислотную последовательность. Выражение «нуклеотидная последовательность, которая кодирует белок или РНК» также может включать интроны в той мере, в какой нуклеотидная последовательность, кодирующая белок, может, в некоторых версиях, содержать интрон(ы). Термин «кодирующий» относится к присущему свойству конкретных последовательностей нуклеотидов в полинуклеотиде, таком как ген, кДНК или мРНК, служить в качестве матриц для синтеза других полимеров и макромолекул в биологических процессах, имеющих определенную последовательность нуклеотидов (например, рРНК, тРНК и мРНК) или определенную последовательность аминокислот, а

вытекающие из них биологическим свойства. Таким образом, ген, кДНК или РНК кодируют белок, если в результате транскрипции и трансляции мРНК, соответствующей этому гену, в клетке или другой биологической системе вырабатывается белок. Как кодирующая цепь, нуклеотидная последовательность которой идентична последовательности мРНК и обычно приведена в перечнях последовательностей, так и некодирующая цепь, используемая в качестве матрицы для транскрипции гена или кДНК, могут рассматриваться как кодирующие белок или другой продукт этого гена или кДНК.

[0270] Термин «функционально связанный» или «транскрипционный контроль» относится к функциональной связи между регуляторной последовательностью и гетерологичной нуклеотидной последовательностью, которая приводит к экспрессии гетерологичной последовательности нуклеиновой кислоты. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты является функционально связанной со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты находится в функциональной взаимосвязи со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, промотор является функционально связанным с кодирующей последовательностью, если промотор влияет на транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности. Функционально соединенные последовательности ДНК могут быть смежными друг с другом и, например, если необходимо соединить две кодирующие белок области, находиться в одной рамке считывания.

[0271] Молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие по меньшей мере один белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению), описанный в данном документе, или его фрагмент, может представлять собой молекулу ДНК, молекулу РНК или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит или представляет собой транскрипт матричной РНК (мРНК), кодирующий по меньшей мере один белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению), описанный в данном документе, или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит или представляет собой конструкцию ДНК, кодирующую по меньшей мере один белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению), описанный в данном документе, или его фрагмент.

[0272] В некоторых вариантах осуществления весь или фрагмент белка (например, экзогенного цитокина по настоящему изобретению, слитого белка по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению), описанный в данном документе, кодируется кодон-оптимизированной молекулой нуклеиновой кислоты, например, для экспрессии в клетке (например, клетке млекопитающего). В данной области известны различные способы оптимизации кодонов, например, описанные в патентах США №№ 5786464 и 6114148, каждый из которых в полном объеме включен в данный документ посредством ссылки.

[0273] Экспрессию нуклеиновых кислот, описанных в данном документе, можно обеспечить путем функционального связывания нуклеиновой кислоты, кодирующей белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению) или его фрагмент, с промотором в экспрессионном векторе. Типовые промоторы (например, конститутивные промоторы) включают, но не ограничиваются этим, промотор фактора элонгации-1 α (EF-1 α), промотор немедленного раннего цитомегаловируса (ЦМВ), промотор убиквитина С, промотор фосфоглицерокиназы (PGK), ранний промотор обезьяньего вируса 40 (SV40), промотор вируса опухоли молочной железы мыши (MMTV), промотор длинного терминального повтора (LTR) вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), промотор вируса мышинного лейкоза Молони (MoMuLV), промотор вируса птичьего лейкоза, ранний промотор вируса Эпштейна — Барр, промотор вируса саркомы Рауса, промотор актина, промотор миозина, промотор гемоглобина или промотор креатинкиназы. Примеры индуцибельных промоторов включают, но не ограничиваются этим, промотор металлотионина, промотор глюкокортикоида, промотор прогестерона и промотор тетрациклина. Вектор также может содержать дополнительные промоторные элементы, например энхансеры, для регуляции частоты инициации транскрипции.

[0274] В некоторых вариантах осуществления вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению) или его фрагмент, содержит или представляет собой вирусный вектор. Технология вирусных векторов хорошо известна в данной области техники и описана (например, в Sambrook et al., 2012, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NY). Примеры вирусных векторов включают, но не ограничиваются этим, аденовирусные векторы, аденоассоциированные вирусные векторы или ретровирусные векторы (например, лентивирусный вектор или гаммаретровирусный

вектор). В некоторых вариантах осуществления вектор содержит лентивирусный вектор (например, описанный в патенте США № 9149519 или международной публикации № WO 2017/044487, содержание которых в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки).

[0275] В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор включает аденовирусный вектор. Аденовирусы представляют собой большое семейство вирусов, содержащих двухцепочечную ДНК. Они реплицируются в ядре клетки-хозяина, используя механизмы клетки-хозяина для синтеза вирусной РНК, ДНК и белков. В данной области техники известно, что аденовирусы поражают как реплицирующиеся, так и нереплицирующиеся клетки, приспособляются к большим трансгенам и кодируют белки без интеграции в геном клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор содержит вектор Ad2 или вектор Ad5 (например, аденовирусный вектор Ad5f35, например, хелпер-зависимый аденовирусный вектор Ad5F35).

[0276] В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой вектор аденоассоциированного вируса (AAV). Системы AAV в целом хорошо известны в данной области техники (смотрите, например, Kelleher and Vos, *Biotechniques*, 17(6):1110-17 (1994); Cotten et al., *P.N.A.S. U.S.A.*, 89(13):6094-98 (1992); Curiel, *Nat Immun*, 13(2-3):141-64 (1994); Muzyczka, *Curr Top Microbiol Immunol*, 158:97-129 (1992) и Asokan A, et al., *Mol. Ther.*, 20(4):699-708 (2012)). Способы получения и применения рекомбинантных векторов AAV (rAAV) описаны, например, в патентах США №№ 5139941 и 4797368.

[0277] Было охарактеризовано несколько серотипов AAV, включая AAV1, AAV2, AAV3 (например, AAV3B), AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 и AAV11, а также их варианты. В общем случае можно использовать любой серотип AAV, чтобы доставить белок (например, экзогенный цитокин по настоящему изобретению, слитый белок по настоящему изобретению или CAR по настоящему изобретению) или его фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления серотип AAV обладает тропизмом к определенной ткани.

[0278] Недавно было показано, что в некоторых вариантах осуществления система CRISPR/Cas9 способствует высокому уровню точного редактирования генома с использованием векторов на основе аденоассоциированного вируса (AAV), которые служат в качестве ДНК-матрицы донора во время гомологичной рекомбинации (ГР).

[0279] В некоторых вариантах осуществления вектор содержит гаммаретровирусный вектор (например, описанный в Tobias Maetzig et al., "Gammaretroviral Vectors: Biology, Technology and Application" *Viruses*. 2011 Jun; 3(6): 677–713, который в

полном объеме включен в данный документ посредством ссылки). Примеры гаммаретровирусных векторов включают вирус лейкоза мыши (MLV), вирус некроза селезенки (SFFV) и вирус миелопролиферативной саркомы (MPSV), и полученные из них векторы.

[0280] В некоторых вариантах осуществления вектор содержит две или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих белки, например, по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, и CAR, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит две или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих белки, например, по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, и CAR, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления две или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и CAR, кодируются одной молекулой нуклеиновой кислоты, например, в одной рамке считывания и в виде одной полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления две или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок и CAR, кодируются одной молекулой нуклеиновой кислоты, например, в одной рамке считывания и в виде одной полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления два или более белков (например, экзогенный цитокин и CAR) разделены одним или более пептидными сайтами расщепления (например, сайтом ауторасщепления или субстратом для внутриклеточной протеазы). В некоторых вариантах осуществления два или более белков (например, слитый белок и CAR) разделены одним или более пептидными сайтами расщепления (например, сайтом ауторасщепления или субстратом для внутриклеточной протеазы). В некоторых вариантах осуществления расщепляемый пептид содержит пептид свиного тешовируса-1 (P2A), пептид вируса *Thosea asigna* (T2A), пептид вируса ринита А лошадей (E2A), пептид вируса ящера (F2A) или их вариант.

[0281] В некоторых вариантах осуществления вектор содержит по меньшей мере одну последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую белок, например, по меньшей мере один экзогенный цитокин, описанный в данном документе, по меньшей мере один слитый белок, описанный в данном документе, или по меньшей мере один CAR, описанный в данном документе, и по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту, кодирующую по меньшей мере один ген, коэкспрессируемый со вторым белком, например, цитокином, описанным в данном документе (например, TNF, IL-12, IFN, GM-CSF, G-CSF, M-CSF и/или IL-1), или стимулирующим лигандом, описанным в данном документе (например, CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, ICOS-L, ICAM,

CD30L, CD40, CD40L, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, рецептор лимфотоксина бета, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, агонист или антитело, которое связывает рецептор Toll-лиганда, и/или лиганд B7-H3).

Фармацевтические композиции

[0282] В настоящем изобретении, помимо прочего, предложены фармацевтические композиции, содержащие иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) в комбинации с одним или более фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или эксципиентами.

[0283] Когда указано «терапевтически эффективное количество», «иммунологически эффективное количество», «эффективное количество против иммунного ответа» или «эффективное количество, ингибирующее иммунный ответ», точное количество фармацевтической композиции, содержащей иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), может быть определено врачом с учетом индивидуальных различий в возрасте, массе, иммунном ответе и состоянии пациента (субъекта).

[0284] Фармацевтические композиции, содержащие иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), могут содержать буферы, такие как нейтральный солевой буфер или фосфатно-солевой буфер (ФСБ); углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза, декстраны или маннит; белки, полипептиды или аминокислоты (например, глицин); антиоксиданты; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион; адъюванты (например, гидроксид алюминия); сыворотку и консерванты, такие как криопротектор. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция по сути не содержит примесей, например, отсутствуют выявляемые уровни примесей (например, эндотоксина).

[0285] Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно вводить способом, соответствующим заболеванию, расстройству или состоянию, которое необходимо лечить или предотвращать. Количество и частота введения определяются такими факторами, как состояние пациента, а также тип и тяжесть заболевания, расстройства или состояния пациента, хотя соответствующие дозы могут быть определены клиническими испытаниями.

[0286] Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут иметь ряд форм. Эти формы включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, растворы для инъекций и инфузий), дисперсии или суспензии, липосомы и суппозитории. Предпочтительные композиции могут представлять собой растворы для инъекций или инфузий. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно готовить для введения внутривенно, подкожно, внутрикожно, внутриопухолево, интранодально, интрамедуллярно, внутримышечно, трансартериально или внутрибрюшинно.

[0287] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, составлена для парентерального (например, внутривенного, подкожного, внутрибрюшинного или внутримышечного) введения. В некоторых вариантах осуществления описанная в данном документе фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инфузии или инъекции. В некоторых вариантах осуществления описанная в данном документе фармацевтическая композиция составлена для внутримышечной или подкожной инъекции. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно составлять для введения с использованием методов инфузии, которые широко известны в иммунотерапии (смотрите, например, Rosenberg et al., *New Eng. J. of Med.* 319:1676, 1988, которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки).

[0288] В контексте данного документе термины «парентеральное введение» и «введение парентерально» относятся к способам введения, отличным от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции или инфузии, и включают, но не ограничиваются этим, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, подоболочечную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную, внутриопухолевую и интрастернальную инъекцию и инфузию.

[0289] Фармацевтические композиции, содержащие иммунные клетки, описанные в данном документе, можно вводить в дозе от около 10^4 до около 10^9 клеток/кг массы тела (например, от около 10^5 до около 10^6 клеток/кг массы тела), включая все целочисленные значения в пределах этих диапазонов. В некоторых вариантах осуществления доза иммунных клеток, описанных в данном документе (например, стволовых клеток, макрофагов, моноцитов или дендритных клеток) содержит по меньшей мере около 1×10^6 , около $1,1 \times 10^6$, около 2×10^6 , около $3,6 \times 10^6$, около 5×10^6 , около 1×10^7 , около $1,8 \times 10^7$,

около 2 x 10⁷, около 5 x 10⁷, около 1 x 10⁸, около 2 x 10⁸, около 5 x 10⁸, около 1 x 10⁹, около 2 x 10⁹ или около 5 x 10⁹ клеток. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, также можно вводить неоднократно в определенной дозировке. Специалист в данной области техники может легко определить оптимальную дозировку и схему лечения для конкретного пациента, наблюдая за пациентом в отношении признаков заболевания, расстройства или состояния и соответствующим образом скорректировать лечение.

[0290] Может быть желательно вводить фармацевтические композиции, содержащие иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), описанные в данном документе, субъекту, а затем повторно брать кровь (или проводить аферез), активировать собранные иммунные клетки и повторно вводить субъекту активированные иммунные клетки. Этот процесс можно выполнять несколько раз, например, каждые несколько недель. Иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) можно активировать из забора крови объемом от около 10 см³ до около 400 см³. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) активируют из забора крови объемом около 20 см³, около 30 см³, около 40 см³, около 50 см³, около 60 см³, около 70 см³, около 80 см³, около 90 см³ или около 100 см³. Не ограничиваясь какой-либо теорией, способы, включающие множественные заборы крови и повторные инфузии, описанные в данном документе, можно выбирать для определенных популяций иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), вводят в комбинации со второй терапией (например, до, одновременно или после нее). Например, вторая терапия может включать, но не ограничивается этим, противовирусную терапию (например, цидофовир, интерлейкин-2, цитарабин (ARA-C) или натализумаб), терапию Т-клетками с химерным антигенным рецептором (CAR-T), терапию Т-клетками с Т-клеточным рецептором (ТКР), химиотерапию, облучение, иммунодепрессант (например, циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, микофенолат, антитело FK506 или глюкокортикоиды), антагонист (например, один или более из антагониста PD-1, антагониста PD-L1, антагониста CTLA4, антагониста CD47, антагониста SIRP α , агонистов CD40, антагониста CSF1/CSF1R или агониста STING) или иммунодеструктивный агент (например, антитело к CD52 (например, алемтузумаб), антитело к CD3, цитотоксин, флударибин, циклоспорин, FK506, рапамицин, микофеноловую кислоту, стероид, FR901228 или облучение).

[0291] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, содержащие иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), вводят в комбинации (например, до, одновременно или после) с трансплантацией костного мозга или абляционной терапией лимфоцитов с использованием химиотерапевтического агента (например, флударабина, дистанционной лучевой терапии (ДЛТ), циклофосфида или ритуксана). В некоторых вариантах осуществления субъекты проходят стандартное лечение высокодозной химиотерапией с последующей трансплантацией стволовых клеток периферической крови. В некоторых вариантах осуществления после трансплантации субъекты получают инфузию фармацевтической композиции, содержащей иммунные клетки, описанные в данном документе. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно вводить до или после операции.

[0292] Дозировка любой вышеупомянутой терапии для введения субъекту будет варьироваться в зависимости от заболевания, расстройства или состояния, которое лечат, и в зависимости от конкретного субъекта. Масштабирование доз для введения человеку можно выполнять в соответствии с принятой в данной области практикой. Например, доза алемтузумаба обычно составляет от около 1 мг до около 100 мг для взрослого человека, обычно вводится ежедневно в течение периода от около 1 дня до около 30 дней, например, суточная доза составляет от около 1 мг до около 10 мг в день (например, как описано в патенте США № 6120766, который в полном объеме включен в данный документ посредством ссылки).

Способы лечения

[0293] В настоящем изобретении, помимо прочего, предложены способы лечения заболевания или расстройства (например, заболевания или расстройства, описанного в данном документе) у субъекта, включающие доставку фармацевтической композиции, содержащей иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки). В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции, описанной в данном документе, вводят субъекту, имеющему заболевание или расстройство. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно использовать для производства лекарственного средства для лечения заболевания или расстройства у субъекта или для стимуляции иммунного ответа у субъекта.

[0294] Субъект, которого лечат способами, описанными в данном документе, может представлять собой млекопитающее, например, примата, например, человека (например, пациента, имеющего или подверженного риску заболевания или расстройства, описанного в данном документе). В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки) могут быть аутологичными, аллогенными или ксеногенными по отношению к субъекту. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно вводить субъекту в соответствии со схемой введения, описанной в данном документе, отдельно или в комбинации с одним или более терапевтическими агентами, процедурами или методами.

[0295] Фармацевтическую композицию, содержащую иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), можно применять для лечения или предотвращения заболевания, связанного с опухолью или раком, нейродегенеративного заболевания или расстройства, воспалительного заболевания или расстройства, сердечно-сосудистого заболевания или расстройства, фиброзного заболевания или расстройства, заболевания, связанного с амилоидозом, и их комбинации.

[0296] В данном документе предложен способ лечения (например, одно или более из уменьшения, ингибирования или замедления прогрессирования) рака или опухоли у субъекта с помощью фармацевтической композиции, содержащей иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки). Субъект может иметь взрослую или детскую форму рака. Рак может быть раком ранней, промежуточной или поздней стадии или метастатическим раком. Рак может включать, но не ограничивается этим, солидную опухоль, гемобластоз (например, лейкоз, лимфому или миелому, например, множественную миелому) или метастатическое поражение. Примеры солидных опухолей включают злокачественные новообразования, например, саркомы и карциномы, например, аденокарциномы различных систем органов, такие как поражающие легкие, молочные железы, яичники, лимфоидные ткани, желудочно-кишечный тракт (например, толстую кишку), анальный канал, половые органы и мочеполовой тракт (например, почки, уротелиальные клетки, клетки мочевого пузыря, предстательную железу), глотку, ЦНС (например, мозг, нервные или глиальные клетки), голову и шею, кожу (например, меланома, например, кожная меланома), поджелудочную железу и кости (например, хордома).

[0297] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) (например, немелкоклеточного рака

легкого (НМРЛ) с плоскоклеточным и/или неплоскоклеточным гистологическим строением, или аденокарциномы НМРЛ), или мелкоклеточного рака легкого (МРЛ)), рака кожи (например, карциномы из клеток Меркеля или меланомы (например, прогрессирующей меланомы)), рака яичников, мезотелиомы, рака мочевого пузыря, саркомы мягких тканей (например, гемангиоперицитомы (ГПК)), рака кости (саркомы кости), рака почки (например, рака почки (например, почечно-клеточной карциномы)), рака печени (например, гепатоцеллюлярной карциномы), холангиокарциномы, саркомы, миелодиспластического синдрома (МДС), рака предстательной железы, рака молочной железы (например, рака молочной железы, который не экспрессирует один, два или все рецепторы эстрогена, рецептор прогестерона или Her2/neu, например, тройной негативный рак молочной железы), колоректального рака (например, рецидивирующего колоректального рака или метастатического колоректального рака, например, микросателлитного нестабильного колоректального рака, микросателлитного стабильного колоректального рака, колоректального рака с системой восстановления несоответствия или колоректального рака с дефектной системой восстановления несоответствия), рака носоглотки, рака двенадцатиперстной кишки, рака эндометрия, рака поджелудочной железы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи (HNSCC)), рака анального канала, рака желудочно-пищеводного тракта, рака щитовидной железы (например, анапластической карциномы щитовидной железы), рака шейки матки (например, плоскоклеточного рака шейки матки), нейроэндокринной опухоли (НЭО) (например, атипичной карциноидной опухоли легких), лимфопролиферативного заболевания (например, посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания), лимфомы (например, Т-клеточной лимфомы, В-клеточной лимфомы или неходжкинской лимфомы), миеломы (например, множественной миеломы) или лейкемии (например, миелоидного лейкоза или лимфоидного лейкоза).

[0298] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой опухоль головного мозга, например, глиобластому, глиосаркому или рецидивирующую опухоль головного мозга. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы, например, прогрессирующий рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак кожи, например, меланому (например, меланому стадии II-IV, HLA-A2-положительную меланому, нерезектабельную меланому или метастатическую меланому) или карциному из клеток Меркеля. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак почки, например, почечно-клеточную карциному (ПКР) (например, метастатическую почечно-клеточную карциному). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак

молочной железы, например, метастатическую карциному молочной железы или карциному молочной железы стадии IV, например, тройной негативный рак молочной железы (TNBC). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой вирус-ассоциированный рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак анального канала (например, плоскоклеточный рак анального канала). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак шейки матки (например, плоскоклеточный рак шейки матки). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка (например, рак желудка, положительный в отношении вируса Эпштейна — Барр (EBV), или рак желудка или желудочно-пищеводного соединения). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи (например, ВПЧ-положительный и отрицательный плоскоклеточный рак головы и шеи (ПКРГШ)). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак носоглотки (РНГ). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой колоректальный рак, например, рецидивирующий колоректальный рак, метастатический колоректальный рак, например, микросателлитный нестабильный колоректальный рак, микросателлитный стабильный колоректальный рак, колоректальный рак со способностью к репарации несоответствия или колоректальный рак с дефектной системой восстановления несоответствия.

[0299] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гемобластоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз, например, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический лейкоз или острый лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лимфому, например, лимфому Ходжкина (ЛХ), неходжкинскую лимфому, лимфоцитарную лимфому или диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВКЛ) (например, рецидивирующую или рефрактерную ЛХ или ДВКЛ). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой миелому, например, множественную миелому.

[0300] Фармацевтическую композицию, содержащую иммунные клетки, описанные в данном документе (например, стволовые клетки, макрофаги, моноциты или дендритные клетки), можно применять для усиления или модуляции иммунного ответа у субъекта. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, усиливает, стимулирует или повышает иммунный ответ у субъекта (например, у субъекта, имеющего или подверженного риску заболевания или расстройства, описанного в данном документе). В некоторых вариантах осуществления субъект имеет

иммунодефицит или подвержен риску его развития. Например, субъект проходит или прошел химиотерапевтическое лечение и/или лучевую терапию.

[0301] В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект имеет воспалительное заболевание или подвержен риску его развития (например, хронического или острого воспалительного заболевания). В некоторых вариантах осуществления субъект имеет аутоиммунное заболевание или расстройство или подвержен риску их развития. Примеры аутоиммунных заболеваний, которые можно лечить описанными в данном документе способами, включают, но не ограничиваются этим, болезнь Альцгеймера, астму (например, бронхиальную астму), аллергию (например, atopическую аллергию), синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), атеросклероз, болезнь Бехчета, целиакию, кардиомиопатию, болезнь Крона, цирроз печени, сахарный диабет, диабетическую ретинопатию, экзему, фибромиалгию, фибромиозит, гломерулонефрит, реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ), синдром Гийена — Барре, гемолитическую анемию, рассеянный склероз, миастению, остеоартрит, полихондрит, псориаз, ревматоидный артрит, сепсис, инсульт, васкулит, вентилятор-индуцированное повреждение легких, отторжение трансплантата, феномен Рейно, синдром Рейтера, ревматизм, саркоидоз, склеродермию, синдром Шегрена, язвенный колит, увеит, витилиго или гранулематоз Вегенера.

[0302] Введение фармацевтических композиций, описанных в данном документе, можно осуществлять любым удобным способом (например, посредством инъекции, приема внутрь, переливания, ингаляции, имплантации или трансплантации). В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе фармацевтические композиции вводят путем инъекции или инфузии. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно вводить пациенту трансартериально, подкожно, внутривенно, внутрикочно, внутриопухолево, интранодально, интрамедуллярно, внутримышечно или внутрибрюшинно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, описанную в данном документе, вводят парентерально (например, внутривенно, подкожно, внутрибрюшинно или внутримышечно). В некоторых вариантах осуществления описанную в данном документе фармацевтическую композицию вводят посредством внутривенной инфузии или инъекции. В некоторых вариантах осуществления описанную в данном документе фармацевтическую композицию вводят посредством внутримышечной или подкожной инъекции. Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, можно вводить посредством инъекции непосредственно в очаг

воспаления, очаг локального заболевания, лимфатический узел, орган, опухоль или очаг инфекции у субъекта.

[0303] Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включая номера доступа GenBank, в полном объеме включены посредством ссылки. Кроме того, материалы, способы и примеры являются иллюстративными и не носят ограничительного характера. Если не указано иное, все употребляемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно подразумевается специалистом в области техники, к которой относится данное изобретение. Хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в данном документе, можно использовать на практике или при тестировании данного изобретения, подходящие способы и материалы описаны в данном документе.

[0304] Изобретение дополнительно иллюстрируется следующими примерами. Пример приведен только в иллюстративных целях. Его никоим образом не следует рассматривать как ограничение объема или содержания изобретения.

ПРИМЕРЫ

[0305] Следующие примеры представлены для того, чтобы описать специалисту в данной области техники, как осуществлять и применять способы и композиции, описанные в данном документе, и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

Пример 1: Перенос слитых белков на клеточную поверхность клеток НЕК293Т

[0306] В день 0 клетки НЕК293Т временно трансфицировали плазмидной ДНК, используя Липофектамин 3000. В день 2 клетки НЕК293Т оценивали в отношении экспрессии и переноса слитых белков, экспрессируемых из типовых конструкций по настоящему изобретению (смотрите **Фиг. 5А** и **Фиг. 5В**). Иммуноокрашивание в отношении FLAG-тега на N-конце слитого белка указывает на правильное сворачивание и перенос слитого белка на клеточную поверхность, тогда как вестерн-блоттинг проводили, чтобы определить массу полноразмерного слитого белка.

[0307] Как показано на **Фиг. 6А**, трансфекция клеток НЕК293Т конструкциями, кодирующими слитые белки, не оказывала негативного влияния на жизнеспособность клеток по сравнению с нетрансфицированными клетками. Как показано на **Фиг. 6В**, клетки НЕК также были способны экспрессировать 3 отдельных слитых белка (IFN- β и IFNAR1, IL-4 и IL2R γ и IL-4 и IL13R α) на клеточной поверхности, на что указывает иммуноокрашивание в отношении FLAG-тега. Кроме того, как показано на **Фиг. 7**, существует корреляция между выявлением FLAG-тега антителом и экспрессией mCherry в

группах IFN β -IFNAR1 и IL4-IL13R α . Вестерн-блот-анализ дополнительно подтвердил экспрессию слитых белков (смотрите **Фиг. 8**). Используя антитела, нацеленные на цитокины (которые имеют небольшую молекулярную массу), выявляли большую молекулярную массу, которая является результатом прямого слияния с цитокиновым рецептором. Слияние с цитокиновым рецептором было особенно очевидным в случае IFN β . IFNAR1 является в высокой степени гликозилированным, что увеличивает его массу почти в 2 раза по сравнению с прогнозируемой массой на основе аминокислотного состава и приводит к смазанной полосе в вестерн-блоте. за счет нацеливания на цитокин IFN β вестерн-блот позволил выявить гликозилированную природу IFNAR1, демонстрируя слияние этих двух белков.

Пример 2: Экспрессия слитых белков в первичных макрофагах

[0308] В день 0 макрофаги трансдуцировали VPX-лентивирусом, содержащим слитый белок (K3 10). В день 2 среду для макрофагов заменяли свежей средой. В день 4 проводили проточную цитометрию (ПЦМ), чтобы проанализировать поверхностную экспрессию слитых белков, кодируемых типовыми конструкциями по настоящему изобретению, с иммуноокрашиванием в отношении FLAG-тега на N-конце слитого белка (смотрите **Фиг. 9**).

[0309] Как показано на **Фиг. 10А**, трансфекция макрофагов конструкциями, кодирующими слитые белки, снижала жизнеспособность этих клеток по сравнению с нетрансфицированными макрофагами. Как показано на **Фиг. 10А** и **Фиг. 10В**, слитые белки на основе IL4 успешно экспрессировались на поверхности макрофагов, тогда как слитые белки на основе IFN- β не были выявлены на поверхности макрофагов. Эти результаты по сравнению с результатами примера 1 показывают, что макрофаги могут быть более чувствительными, чем клетки НЕК293Т, к конструкции каждого слитого белка. Кроме того, эти результаты могут показывать, что поверхностная экспрессия не является обязательной для сигнализации, например, функциональный сигнальный каскад может происходить из эндоплазматического ретикула. Общую экспрессию белка можно определить, используя вестерн-блот, тогда как проточную цитометрию с клеточной пермеабиллизацией можно использовать для определения внутриклеточной экспрессии. Также возможно, что слитый белок на основе IFN- β экспрессировался на клеточной поверхности, но не был выявлен при соотношении сигнала и шума используемой системы. И наконец, результаты, приведенные на **Фиг. 11А** и **Фиг. 11В**, иллюстрируют жизнеспособность, экспрессию P2A-mCherry и поверхностную экспрессию слитых

белков в макрофагах, трансдуцированных VPX-лентивирусом, содержащим слитый белок.

Пример 3: Эффект провоспалительного слитого белка на провоспалительные и противовоспалительные маркеры

[0310] В день 0 макрофаги трансдуцировали VPX-лентивирусом, содержащим слитый белок (K3 10). В день 3 среду для макрофагов заменяли свежей средой. В день 4 проводили проточную цитометрию (ПЦМ), чтобы проанализировать провоспалительные (т. е. M1) (CD80 и CD86) и противовоспалительные (т. е. M2) (CD163 и CD206) маркеры.

[0311] Как показано на **Фиг. 12А** и **Фиг. 12В**, трансдукция провоспалительным слитым белком (IFN β -IFNAR1) успешно индуцировала провоспалительный фенотип макрофагов с повышенным уровнем провоспалительных маркеров и сниженным уровнем противовоспалительных маркеров. Трансдукция одним лентивирусом индуцировала провоспалительный фенотип, поэтому важно отметить, что слитый белок IFN β -IFNAR1 поляризовал макрофаги в дополнение к эффекту самого лентивируса (представленного контролем mCherry).

[0312] Хотя IFN β -IFNAR1 не был выявлен на поверхности макрофагов (смотрите пример 2), результаты этой панели M1/M2 говорят о том, что поверхностная экспрессия может быть необязательной для функции слитого белка.

Пример 4: Эффект коэкспрессии цитокина и CAR на жизнеспособность макрофагов и экспрессию CAR

[0313] Макрофаги получали из CD14⁺ моноцитов периферической крови, которые дифференцировали, используя 10 нг/мл GM-CSF, в течение 7 дней. Первичные полученные из моноцитов макрофаги электропорировали 50 мкМ мРНК (содержащей химические модификации), кодирующей анти-HER2 CAR (CAR1), с или без 50 мкМ мРНК, кодирующей цитокин. Используя проточную цитометрию, количественно определяли процент живых клеток через 24 часа (**Фиг. 13**). Кроме того, используя проточную цитометрию, оценивали процент CAR⁺ клеток. Как показано на **Фиг. 14**, более 50 % макрофагов, трансфицированных CAR, с или без котрансфекции мРНК цитокина, экспрессировали CAR на поверхности в течение 24 часов.

Пример 5: Эффект коэкспрессии цитокина и CAR на жизнеспособность макрофагов и экспрессию цитокинов

[0314] 2 x 10⁶ макрофагов человека трансфицировали 50 мкМ мРНК CAR или 50 мкМ мРНК CAR и 50 мкМ мРНК, кодирующей IFN- γ , IL-10, CCL19 или CXCL12 (смотрите **Фиг. 15, 16, 17 и 18**). Супернатанты собирали через 24 часа после электропорации, а уровни цитокинов оценивали, используя прибор MSD. Как показано на **Фиг. 15**, макрофаги, трансфицированные мРНК CAR и мРНК IFN- γ (группа CAR1+IFNg), секретировали высокие уровни IFN- γ , тогда как трансфекция мРНК CAR и мРНК, кодирующей IL-10, CCL19 или CXCL12, не приводила к секреции IFN- γ . Аналогично, как показано на **Фиг. 16**, макрофаги, котрансфицированные мРНК CAR и мРНК IL-10, секретировали высокие уровни IL-10, тогда как макрофаги, трансфицированные мРНК CAR и мРНК, кодирующей IFN- γ , CCL19 или CXCL12, не приводили к секреции IL-10. Также, как показано на **Фиг. 17**, макрофаги, трансфицированные мРНК CAR и мРНК CCL19, секретировали высокие уровни CCL19, тогда как трансфекция мРНК CAR и мРНК, кодирующей IFN- γ , IL-10 или CXCL12, не приводила к секреции CCL19. И наконец, как показано на **Фиг. 18**, макрофаги, трансфицированные мРНК CAR и мРНК CXCL12, секретировали более высокие уровни CXCL12, чем при трансфекции мРНК CAR и мРНК, кодирующей IFN- γ , IL-10 или CCL19. CCL19 и CXCL12 оба представляют собой хемоаттрактантные хемокины, которые приводят к рекрутированию Т-клеток и других иммунных клеток.

Пример 6: Эффект коэкспрессии цитокина и CAR на фенотип макрофагов

[0315] Чтобы оценить способность трансфицированных макрофагов к самополяризации в провоспалительный (M1) или противовоспалительный (M2) фенотипы, фенотип макрофагов оценивали, используя проточную цитометрию, через 24 часа после электропорации. Как показано на **Фиг. 19**, макрофаги, электропорированные мРНК CAR и мРНК IFN- γ (группа CAR1+IFNg), демонстрировали наивысший уровень поверхностной экспрессии маркеров макрофагов M1, CD80 и CD86. Эти данные демонстрируют, что котрансфекция макрофага мРНК CAR и мРНК IFN- γ обеспечивает возможность поляризации в фенотип M1. Как показано на **Фиг. 20**, макрофаги, электропорированные мРНК CAR и мРНК IL-10 (группа CAR+IL-10), демонстрировали наивысший уровень поверхностной экспрессии маркеров макрофагов M2, CD163 и CD206. Эти данные демонстрируют, что котрансфекция макрофага мРНК CAR и мРНК IL-10 обеспечивает возможность поляризации в фенотип M2.

ТИПОВЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

Таблица 2а – Аминокислотные последовательности эндогенных белков (провоспалительные цитокины)

Название	Uniprot	Аминокислотная последовательность	Примечания
IFN-α2	P01563	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHD FGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKD SSAAWDETL LDKFYTELYQQLN DLEACVIQGVGV TETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAW EVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE (SEQ ID NO: 1)	Сигнальный пептид удален
IFN-β	P01574	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKD RMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNI FAIF RQDSSSTGWN ETIVENLLANVYHQINHLKTVLEE KLEKEDFTRGKLMSSHLKRYYGRILHYLKAKEY SHCAWTIVRVEILRN FYFINRLTG YLRN (SEQ ID NO: 2)	Сигнальный пептид удален
IFN-γ	P01579	QDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILK NWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNVKFFNSNKKRDDFEKLTNYSVTDL NVQRKAIHEL IQVMAELSPA AKTGKRKRSQMLFR G (SEQ ID NO: 3)	Сигнальный пептид удален, пропептид удален
TNF-α	P01375	VRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQLQWLNRRAN ALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGGQ CPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRET PEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPD YLDFAESGQVYFGIIAL (SEQ ID NO: 4)	Растворимая форма (ТМД удален) — Wang et al 1985
IL-1β	P01584	APVRS LNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGG DMEQQVVF SMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLY LSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFN KIEINNKLEFESAQFPN WYISTSQAENMPVFLGGT KGGQDITDFTMQFVSS (SEQ ID NO: 5)	Пропептид удален для зрелой формы
IL-6	P05231	VPPGEDSKDVAAPHRQPLTSSERIDKQIRYILDGISA LRKETCNKSNMCESSKEAL AENNLNLPKMAEKD GCFQSGFNEETCLVKIITGLLEFEVYLEYLQNR FES SEEQARAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPT TNASLLTKLQAQNQWLQDMTTHLILRSFKEFLQSS LRALRQM (SEQ ID NO: 6)	Сигнальный пептид удален
Субъединица p35 IL-12	p29459	RNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKAR QTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTK NESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSS IY EDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM LA VIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCI LLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS (SEQ ID NO: 7)	Сигнальный пептид удален
Субъединица p40 IL-12	P29460	IWELK KDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEE DGITWTL DQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTC HKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPK NKTFLRCEAKNYSGRFTCWWT TISTDLTFSVKSS RGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEC QEDSACPAAEESLPIEVMVD AVHKLKYENY TSSFF IRDIIPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWS	Сигнальный пептид удален

		TPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATV ICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCS (SEQ ID NO: 8)	
--	--	---	--

Таблица 2b – Аминокислотные последовательности эндогенных белков (противовоспалительные цитокины)

Название	Uniprot	Аминокислотная последовательность	Примечания
IL-4	P05112	HKCDITLQEIIKTLNSLSEQKTLCTELTVTDIFAASK NTTEKETFCRAATVLRQFYSHNEKDTRCLGATAQ QFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEAN QSTLENFLERLKTIMREKYSKCSS (SEQ ID NO: 9)	Сигнальный пептид удален
IL-10	P22301	SPGQGTQSENSCTHFPGNLNPMLRDLRDAFSRVKT FFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMI QFYLEEVMPPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKLTLRL RLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIY KAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN (SEQ ID NO: 10)	Сигнальный пептид удален
IL-13	P35225	LTCLGGFASPQVPPSTALRELIEELVNITQNQKAPL CNGSMVWSINLTAGMYCAALESINVSAGCSAIEKT QRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVK DLLLHLKCLFREGRFN (SEQ ID NO: 11)	Сигнальный пептид удален
IL-18	Q14116	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD SDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKI STLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPG HDNKMQFESSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDE LGDRSIMFTVQNEDE (SEQ ID NO: 12)	Сигнальный пептид удален

Таблица 3a – Аминокислотные последовательности эндогенных белков (рецепторы провоспалительных цитокинов)

Название	Uniprot	Аминокислотная последовательность	Примечания
IFNAR1	P17181	KNLKSPQKVEVDIIDDNFILRWNRSDSVGNVTFSE DYQKTGMDNWIKLSGCQNITSTKCNFSSLKLNVEE EIKLRIRAEKENTSSWYEVDSFTPFKKAQIGPPEVH LEAEDKAIIVHISPGTKDSVMWALDGLSFTYSLVIW KNSSGVEERIENIYSRHKIYKLSPEPTYCLKVKAAL LTSWKIGVYSPVHCIKTTVENELPPPENIEVSVQNN NYVLKWDYTYANMTFQVQWLHAFKRNPNHLY KWKQIPDCENVKTTQCVPQNVFQKGIYLLRVQAS DGNNTSFWSSEEIKFDTEIQAFLLPPVFNIRSLSDSFHI YIGAPKQSGNTPVIQDYPLIYEIIFWENTSNAERKIE KKTDTVTPNLKPLTVYCVKARAHTMDEKLNKSSV FSDAVCEKTKPGNTSKIWLIVGICIALFALPFVIYAA KVFLRCINYVFFPSLKPSSSIDEYFSEQPLKNLLSTS EEQIEKCFIENISTIATVEETNQTDEDHKKYSSQTSQ DSGNYSNEDESESKTSEELQQDFV (SEQ ID NO: 13)	Сигнальный пептид удален
IFNAR2	P48551	ISYDSPDYTDESCTFKISLRNFRSILSWELKNHSIVPT HYTLLYTIMSKPEDLKVVKNCANTRSFCDLTDEW RSTHEAYVTVLEGFSGNTTLFSCSHNFWLAIDMSFE PPEFEIVGFTNHINVMVKFPSIVEEELQFDLSLVIEEQ SEGIVKHKHPEIKGNMSGNFTYIIDKLIPNTNYCVS	Сигнальный пептид удален

		VYLEHSDEQAVIKSPLKCTLLPPGQESESAESAKIG GIITVFLIALVLTSTIVTLKWIGYICLRNSLPKVLNFH NFLAWPFPNLPPEAMDMVEVIYINRKKKVWDYN YDDESDDTEAAPRTSGGGYTMHGLTVRPLGQAS ATSTESQLIDPESEEEEDLPEVDVELPTMPKDSPQQL ELLSGPCERRKSPLQDPFPEEDYSSTEGSGGRITFNV DLNSVFLRVLDDESDDDLEAPLMLSSHLEEMVDPE DPDNVQSNHLLASGEGTQPTFPSPSSEGLWSEDAPS DQSDTSESDVDLGDGYIMR (SEQ ID NO: 14)	
IFNGR1	P15260	EMGTADLGPSSVPTPTNVTIESYMNPIVYWEYQIM PQVPVFTVEVKNYGVKNSEWIDACINISHHYCNISD HVGDPNSLWVRVKARVGQKESAYAKSEEFVCRD GKIGPPKLDIRKEEKQIMIDIFHPSVFNNGDEQEVDY DPETTCYIRVYNVYVRMNGSEIQYKILTQKEDDCDE IQCQLAIPVSSLNSQYCVSAEGVLHVWGVTTTEKSKE VCITIFNSSIKGSLWIPVVAALLLFLVLSLVFICFYIKK INPLKEKSIILPKSLISVVRSATLETKPESKYVSLITSY QPFSLKEKVVCEEPLSPATVPGMHTEDNPGKVEHTE ELSSITEVVTTEENIPDVVPGSHLTPIERESSPLSSNQ SEPGSIALNSYHSRNCSESDHSRNGFDTDSSCLESHS SLSDSEFPNNKGEIKTEGQELITVIKAPTSFGYDKP HVLVDLLVDDSGKESLIGYRPTEDSKEFS (SEQ ID NO: 15)	Сигнальный пептид удален
IFNGR2	P38484	APPDPLSQLPAPQHPKIRLYNAEQVLSWEPVALSNST RPVVYQVQFKYTDSKWFTADIMSIGVNCQTATEC DFTAASPSAGFPMDFNVTLRLRAELGALHSAWVTM PWFQHYRNVTVGPPENIEVTPGEGSLIIRFSSPFDIA DTSTAFFCYVHYWEKGGIQQVKGPFRSNSISLDNL KPSRVYCLQVQAQLLWNKSNIFRVGHLNISCYETM ADASTELQQVILISVGTFSLLSVLAGACFFLVLYRG LIKYWFHTPPSIPLQIEEYLDPTQPILEALDKDSSPK DDVWDSVSIISFPEKEQEDVLQTL (SEQ ID NO: 16)	Сигнальный пептид удален
TNFR1	P19438	LVPHLGDREKRDSVCPQGKYIHPQNNNSICCTKCHK GTLYLNDCPGPGQDTCRECESGSFTASENHLRHC LSCSKCRKEMGQVEISSCTVDRDTCGCRKNQYR HYWSENLFQCFNCSLCLNGTVHLSQEKQNTVCT CHAGFFLRENECVSCSNCKKSLECTKLCLPQIENVK GTEDSGTTVLLPLVIFFGCLL SLLFIGLMYRYQRW KSKLYSIVCGKSTPEKEGELEGTTKPLAPNPSFSPT PGFTPTLGFSPVPSSTFTSSSTYTPGDCPNFAAPRE VAPPYQGADPILATALASDPIPPLQKWEDSAHKPQ SLDTPATLYAVVENVPPLRWKEFVRRGLSDHEI DRLELQNGRCLREAQYSMLATWRRRTPREATLEL LGRVLRDMDLLGCLEDIEEALCGPAALPPAPSLLR (SEQ ID NO: 17)	Сигнальный пептид удален. Мембраносвязанная форма
TNFR2	P20333	LPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYDQTAQMCCSKC SPGQHAKVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQLWNWVP ECLSCGSRSSDQVETQACTREQNRICRCRPGWYC ALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFGVARPGTETSDVVC KPCAPGTFSTNTSSTDICRPHQICNVVAIPGNASMD AVCTSTSPTRSMAPGAVHLPQPVSTRSQHTQPTPEP STAPSTSFLPMGSPSPAEGSTGDFALPVGLIVGVTA	Сигнальный пептид удален. Мембраносвязанная форма

		LGLLIIGVVNCVIMTQVKKKPLCLQREAKVPHLPA DKARGTQGPEQQHLLITAPSSSSSSLESSASALDRR APTRNQPQAPGVEASGAGEARASTGSSDSSPGGHG TQVNVTCIVNVCSSSDHSSQCSSQASSTMGD TDSSP SESPKDEQVPPFSKEECAFRSQLETPETLLGSTEEKPL PLGVPDAGMKPS (SEQ ID NO: 18)	
IL-1R1	P14778	LEADKCKEREEKIILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKG TITWYKDDSKTPVSTEQASRIHQHKEKLWFVPAKV EDSGHYVCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYN AQAIKQKLPVAGDGLVCPYMEFFKNENNELPKL QWYKDCKPLLLDNIHFSGVKDRLIVMNVAEKHRG NYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRPVIV SPANETMEVDLGSQIQLICNVTGQLSDIAYWKWNG SVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITVLNISEI ESRFYKHPFTCFKNTHGIDAAYIQLIYPVTNFQKH MIGICVTLTVIIVCSVFIYKIFKIDIVLWYRDSCYDFL PIKASDGKTYDAYILYPKTVGEGSTSDCDIFVFKVL PEVLEKQCGYKLFYGRDDYVGEDIVEVINENVKK SRRLIILVRETSGF SWLGGSSSEQIAMYNALVQDGI KVVLELEKIQDYEKMPESIKFIKQKHGAIRWSGDF TQGPQSAKTRFWKNVRYHMPVQRRSPSSKHQLLS PATKEKLQREAHVPLG (SEQ ID NO: 19)	Сигнальный пептид удален. Мембраносвя занная форма
IL-1R3	Q9NPH3	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKF NYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRI SKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVA FPLEVVQKDSFCFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPN VDGYFPSSVKPTITWYMGCYKIQNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVITYPENGRTFHLRTRTLTKV VGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVY FSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHS RTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEV AKAAKVKQKVPAPRYTVELACFGATVLLVVILIV VYHVYWLEMVLFYRAHFGTDETILDGKEYDIYVS YARNAEEEEFVLLTLRGVLENEFGYKLCIFDRDRLP GGIVTDETL SFIQKSRRLLVVLSPNYVLQGTQALLE LKAGLENMASRGNINVILVQYKAVKETKVKELKR AKTVLTVIKWKGEKSKYPQGRFWKQLQVAMPVK KSPRRSSSDEQGLSYSSLKNV (SEQ ID NO: 20)	Сигнальный пептид удален
IL-6Ra	P08887	LAPRRCPAQEVARGVLTSLPGDSVTLT CPGVEPEDN ATVHWVLRKPAAGSHPSRWAGMGRLLLLRSVQLH DSGNYSYRAGRPA GTVHLLVDVPPEEPQLSCFRK SPLSNVVCEWGP RSTPSLTKAVLLVRKFQNSPAED FQEPQYSQESQKFSCQLAVPEGDSSFYIVSMCVAS SVGSKFSKTQTFQCGILQPDPPANITVTAVARNPR WLSVTWQDPHSWNSSFYRLRFELRYAERSKTFTT WMVKDLQHHCVIHDAWSGLRHVVQLRAQEEFGQ GEWSEWSPEAMGTPWTESRSPPAENEVSTPMQALT TNKDDDNILFRDSANATSLPVQDSSSVPLPTFLVAG GSLAFGTLLCIAIVLRFKKTWKL RALKEGKTS MHP PYSLGQLVPERPRPTPVLVPLISPPVSPSSLGSDNTSS HNRPDARDPRSPYDISNTDYFFPR (SEQ ID NO: 21)	Сигнальный пептид удален. Мембраносвя занная форма

gp130	P40189	ELLDPCGYISPESPVVQLHSNFTAVCVLKEKCMDYF HVNANYIVWKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVTFTDIA SLNIQLTCNILTFGQLEQNVYGITIISGLPPEKPKNLS CIVNEGKKMRCEWDGGRETHLETNFTLKSEWATH KFADCKAKRDTPTSCTVDYSTVYFVNIEVWVEAEN ALGKVTSDHINFDPVYKVKPNPPHNLSVINSEELSSI LKLWTNPSIKSVILKYNIQYRTKDASTWSQIPPED TASTRSSFTVQDLKPFTEYVFRIRCMKEDGKGYWS DWSEEASGITYEDRPSKAPSFYKIDPSHTQGYRT VQLVWKTLPPEANGKILDYEVTLTRWKSHLQNYT VNATKLTVNLTNDRYLATLTVRNLVGKSDAAVLTIP ACDFQATHPVMDLKAFFKDNMLWVEWTTPRESVK KYILEWCVLSDKAPCITDWQQEDGTVHRTYLRGN LAESKCYLITVTPVYADGPGSPESIKAYLKQAPPSK GPTVRTKKVGKNEAVLEWDQLPVDVQNGFIRNYTI FYRTIIGNETAVERNVDSSHTYTLSSLTSDTLYMVRM AAYTDEGGKDGPEFTFTTPKFAQGEIEAIVVPVCLA FLLTLLGVLFVCFNKRDLIKKHIWPNVPDPSKSHIA QWSPHTPPRHNFNSKDQMYSDGNFTDVSVEIEA NDKKPFPEDLKSLDLFKKEKINTEGHSSGIGGSSCM SSSRPSSSSDENESSQNTSSTVQYSTVVHSGYRHQ VPSVQVFSRSESTQPLLDSEERPEDLQLVDHVDGG DGILPRQQYFKQNCSEQHSSPDISHFERSKQVSSVN EEDFVRLKQQISDHISQSCGSGQMKMFQEVSAADA FGPGTEGQVERFETVGMEEAATDEGMPKSYLPQTV RQGGYMPQ (SEQ ID NO: 22)	Сигнальный пептид удален
IL-12-Rβ1	P42701	CRTSECCFQDPPYPDADSGSASGPRDLRCYRISSDR YECSWQYEGPTAGVSHFLRCCSSGRCCYFAAGSA TRLQFSDQAGVSVLYTVTLWVESWARNQTEKSPEV TLQLYNSVKYEPPLGDIKVSCLAGQLRMEWETPDN QVGAEVQFRHRTSPSPWKLGDGCPQDDDTESCLCP LEMNVAQEFQLRRRQLGSQGSSWSKWSSPVCVPE NPPQPQVRFVSVEQLGQDGRRLTLKEQPTQLELPE GCQGLAPGTEVTYRLQLHMLSCPCKAKATRTLHL GKMPYLSGAAYNVAVISSNQFGPLNQTWHIPADT HTEPVALNISVGTNGTTMYWPARAQSMTYCIEWQP VGQDGLLATCSLTAPQDPDPAGMATYSWSRESGA MGQEKCYITIFASAHPEKLTWSTVLSTYHFGGN ASAAGTPHHVSVKNHSLDSVSDWAPSLSTCPGV LKEYVVRCRDEDSKQVSEHPVQPTETQVTLGLRA GVAYTVQVRADTAWLRGVWSQPQRFSIEVQVSDW LIFASLGSFLSILLVGVGLYLGLNRAARHLCPPLPT PCASSAIEFPGGKETWQWINPVDQEEASLQEALV VEMSWDKGERTEPLEKTELPEGAPELALDTELSLE DGDRCKAKM (SEQ ID NO: 23)	Сигнальный пептид удален
IL-12-Rβ2	Q99665	KIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVNITCSLKPRQGC FHYSRRNKLILYKFDRRINFHHGHSLSNSQVTGLPLG TTLFVCKLACINSDEIQICGAEIFVGVAPQEQNLSCI QKGEQGTVACTWERGRDTHLYTEYTLQLSGPKNLT WQKQCKDIYCDYLDGFINLTPESPESNFTAKVTAVN SLGSSSSLPTFTFLDIVRPLPPWDIRIKFQKASVSR TLYWRDEGLVLLNRLRYRPSNSRLWNMNVNVTAK	Сигнальный пептид удален

		GRHDLDDLKPFTEYEFQISSKLHLYKGSWSDWSES LRAQTPEEEPTGMLDVWYMKRHIDYSRQQISLFW KNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGGKAMTQNITGH TSWTTVIPRTGNWAVAVSAANSKGSLLPTRINIMNL CEAGLLAPRQVSANSEGMDNILVTWQPPRKDPSAV QEYVVEWRELHPGGDTQVPLNWLRSRPNVVSALI SENIKSYICYEIRVYALSGDQGGCSSLGNSKHKAPL SGPHINAITEEKGSILISWNSIPVQEQMGCLLHYRIY WKERDSNSQPQLCEIPYRVSQNSHPINSLQPRVTYV LWMTALTAAGESSHGNEREFCLQGKANWMAFVAP SICIAIMVGIFSTHYFQKVFVLLAALRPQWCSREI PDPANSTCAKKYPIAEKTLPLDRLLIDWPTPEDP EPLVISEVLHQVTPVFRHPPCSNWPQREKGIQGHQA SEKDMMHSASSPPPRALQAESRQLVDLYKVLESR GSDPKPENPACPWTVLPAGDLPTHGGLPSNIDDLPL SHEAPLADSLEELPQHISLSVFPSSSLHPLTFSCGD KLTLDQLKMRCDLML (SEQ ID NO: 24)	
--	--	--	--

Таблица 3b – Аминокислотные последовательности эндогенных белков (рецепторы противовоспалительных цитокинов)

Название	Uniprot	Аминокислотная последовательность	Примечания
IL-4R α	P24394	MKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMNPTNCSTELRL LYQLVFLSEAHTCIPENGGAGCVCHLLMDDVVS ADNYTLDLWAGQQLLWKGSEHVKPRAPGNLT VHTNVSDTLLLTWSNPYPDNYLYNHLTYAVNIWSE NDPADFRIYNTYLEPSLRIAASTLKSIGSYRARVRA WAQCYNTTWSEWSPSTKWHNSYREPFEQHLLGVS VSCIVILAVCLLCYVSITKIKKEWWDQIPNPARSLV AIIQDAQGSQWEKRSRGQEPKCPHWKNCLTKLLP CFLEHNMKRDEDPHKA AKEMPFQSGKSAWCPVEI SKTVLWPESISVVRCELFEAPVECEEEEEVEEEKGS FCASPESSRDDFQEGREGIVARLTESLFLDLLGEENG GFCQQDMGESCLLPPSGSTSAHMPWDEFPSAGPKE APPWGKEQPLHLEPSPPASPTQSPDNLTCTETPLVIA GNPAYRSFSNSLSQSPCPRELGPDP LLARHLEEVEPE MPCVPQLSEPTTVPQPEPETWEQILRRNVLQHGAAA APVSAPTSGYQEFVHAVEQGGTQASAVVGLGPPGE AGYKAFSSLLASSAVSPEKCGFGASSGEEGYKPFQD LIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRSPQSSHLSSS PEHLGLEPGEKVEDMPKPPLPQEATDPLVDSLGSIGI VYSALTCHLCGHLKQCHGQEDGGQTPVMASPCCG CCCGDRSSPPTPLRAPDPSGGVPLEASLCPASLAP SGISEKSKSSSSFHPAPGNAQSSSQTPKIVNFVSVGPT YMRVS (SEQ ID NO: 25)	Сигнальный пептид удален. Мембраносвязанная форма
IL-2R γ c	P31785	LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTPTDSLVSSTLPLPEV QCFVFNVEYMNCTWNSSEPQPTNLTLYWYKNSD NDKVQKCSHYLFSEEITSGCQLQKKEIHLTYQTFVVQ LQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHKLSE SQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQS VDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNPLCGSAQH WSEWSHPIHWGSNTSKENPFLFALEAVVISVGSML	Сигнальный пептид удален

		IISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSA WSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEG PGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET (SEQ ID NO: 26)	
IL-13Ra1	P78552	GGGGAAPTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTWNPPE GASSNCSLWYFHFSGDKQDKKIAPETRRSIEVPLNE RICLQVGSQCSTNESEKPSILVEKCISPPEGDPESAVT ELQCIWHNLSYMKCSWLPGRNTSPDTNYTLYYWH RSLEKIHQCENIFREGQYFGCSFDLTKVKDSSFEQHS VQIMVKDNAGKIKPSFNIVPLTSRVKPDPPHIKNSF HNDDLYVQWENPQNFISRCLFYEVEVNNSQTETHN VFYVQEAKCENPEFERNVENTSCFMVPGVLPDTLN TVRIRVKTNKLCYEDDKLWSNWSQEMSIGKKRNST LYITMLLIVPVIVAGAIIVLLLYLKRKIIIFPPIPDPGKI FKEMFGDQNDDTLHWKKYDIYEKQTKEETDSVLI ENLKKASQ (SEQ ID NO: 27)	Сигнальный пептид удален
IL-10R1	Q13651	HGTELPSPPSVWFEAEFFHHILHWTPIPNQSESTCYE VALLRYGIESWNSISNCSQTLSDTLAVTLDLYHSNG YRARVRAVDGSRHSNWTVTNTRFSVDEVTLTVGSV NLEIHNGFILGKIQLPRPKMAPANDTYESIFSHFREYE IAIRKVPGNFTFTHKKVKHENFSLTSGEVGEFCVQ VKPSVASRSNKGMWSKEECISLTRQYFTVTNVIIFFA FVLLSGALAYCLALQLYVRRRKKLPSVLLFKKPSF FIFISQRPSPETQDTIHPLDEEAFLKVSPKLNLDLHG STDSGFGSTKPSLQTEEPQFLLPDHPQADRTLGNRE PPVLGDCSSGSSNSTDSGICLQEPSLSPSTGPTWEQ QVGSNSRGQDDSGIDLQNSEGRAGDTQGGALGH HSPPEPEVPGEEPAAVAFAQGYLRQTRCAEEKATKT GCLEESPLTDGLGPKFGRCLVDEAGLHPPALAKGY LKQDPLEMTLASSGAPTQWQNPTEEWALLALSSC SDLGISDWSFAHDLAPLGCVAAPGGLLGSFNSDLVT LPLISSLQSSE (SEQ ID NO: 28)	Сигнальный пептид удален
IL-10R2	Q08334	MVPPPENVRMNSVNFKNILQWESPAFAKGNLTFTAQ YLSYRIFQDKCMNTTLECDFSSLSKYGDHTLRVRA EFADEHSDWVNITFCPVDDTIIGPPGMQVEVLADSL HMRFLAPKIENEYETWTMKNVYNSWYTNVQYWK NGTDEKFQITPQYDFEVLRLNLEPWTTYCVQVRGFLP DRNKAGEWSEPVEQTTHDETVPSPWMVAVILMASV FMVCLALLGCFALLWCYKTKYAFSPRNSLPQHL KEFLGHPHHTLLFFSFPLSDENDVFDKLSVIAEDSE SGKQNPGDSCSLGTPPGQPQS (SEQ ID NO: 29)	Сигнальный пептид удален
IL-18Ra	Q13478	AESCTSRPHITVVEGEPFYLKHCSCSLAHEIETTKS WYKSSGSQEHVELNPRSSSRIALHDCVLEFWPVELN DTGSYFFQMKNYTQKWKLVIRRNKHSCFTERQVT SKIVEVKKFFQITCENSYYQTLVNSTSLYKNCKKLL ENNKNPITIKKNAEFEDQGYYSVHFLHHNGKLFNIT KTFNITIVEDRSNIVPVLGPKLNHVAVELGKNVRLN CSALLNEEDVIYWMFGEENGSDPNIHEEKEMRIMTP EGKWHASKVLRIENIGESNLNVLYNCTVASTGGTDT KSFILVRKADMADIPGHVFTRGMIIVLILVAVVCLV TVCVIYRVDLVLFYRHLTRRDETLTDGKTYDAFVSY LKECRPENGEHTFAVEILPRVLEKHFYKLCIFERD VVPGGAVVDEIHSLEIKSRRLIIVLSKSYMSNEVRYE	Сигнальный пептид удален

		LESLHEALVERKIKIILIEFTPVTDFTFPLPQSLKLLKS HRVLKWKADKSLSYNSRFWKNLLYLMPAKTVKPG RDEPEVLPVLSSES (SEQ ID NO: 30)	
IL-18R β	O95256	FNISGCSTKLLWYSTRSEEEFVLFCDLPEPQKSHF CHRNRLSPKQVPEHLPFMGSNDLSDVQWYQQPSNG DPLEDIRKSYPHIQDKCTLHFLTPGVNNSGSYICRPK MIKSPYDVACCVKMILEVKPQTNASCEYSASHKQD LLLGSTGSISCPSSLSCQSDAQSPAVTWYKNGKLLSVE RSNRIVVDEVYDYHQGTVCYDTQSDTVSSWTVR AVVQVRTIVGDTKLKPDILDPVEDTLEVELGKPLTIS CKARFGFERVFNPNVIKWKYIKDSDLEWEVSVPEAKSI KSTLKDDEIERNILEKVTQRDLRRKFVCFVQNSIGNT TQSVQLKEKRGVLLYILLGTIGTLVAVLAASALLYR HWIEIVLLYRQSKDQTLGDKKDFDAFVSYAKWS SFPSEATSSLSEEHLALSLFPDVLENKYGYSLCLLER DVAPGGVYAEDIVSIKRSRRGIFILSPNYVNGPSIFEL QAAVNLALDDQTLKLILIKFCYFQEPESLPHLVKAL RVLPTVTWRGLKSVPPNSRFWAKMRYHMPVKNSQ GFTWNQLRITSRIFQWKGLSRTETTGRSSQPKWEW (SEQ ID NO: 31)	Сигнальный пептид удален

Таблица 4а – Кодон-оптимизированные последовательности ДНК эндогенных белков (провоспалительные цитокины)

Название	Uniprot	Кодон-оптимизированная последовательность	Примечания
IFN- α 2	P01563	Tgcgacctccacagaccattccctcggtctcgaagaactctgatgttctgctg ccagatgcggaagattctctttctcatgtctgaaagacaggcagacttggttttc cccaggaggagttcggaaccagttccagaaagcggaaaccattcctgtgctgc acgaaatgatccaacaattttcaacctgtttcaactaaagatagctccgctgatg ggacgagacactcctcgataagttttatacagagctttaccagcagttaaatgatct ggaagcttgtgtcatccaaggggtcggcgtaacgagacgccctgatgaagga ggatagcactatggcagtgcggaagtactccagaggatcacctctatctaaag gaaaaaaagtacagtcctgctgctgggaagtggtagagccgaaatcatgcgt agcttttcttatctacaatttgcaggagtcgttgcgcagtaaagag (SEQ ID NO: 32)	Сигнальный пептид удален
IFN- β	P01574	Atgagttataatttactcggatttctacagcgttagcaactccaatgtcagaag ctgctgtggcaactcaacggcaggctggagtactgcctcaaatagatagaact ttgatattcccgaagaatcaagcagctcagcagttccagaaaggagcggcgc actaacatatacagagatgctgcagaacattttcgtatattcagacaggactcgtc ctctactggatggaatgagaccatcgtcgagaatttctggccaatgtgtatcatca aattaaccacctcaagacgggtctgaagaaaagtggaaaagaggacttcaact agaggcaactgatgtcatccctcacctcaaacgctactatggaggatcctgca ctactaaaggcgaaggagtatagccattgctgctggacaatcgttgcgtagaga ttctgcggaattttactttatcaatcgtttgacagggtacctgcgaaac (SEQ ID NO: 33)	Сигнальный пептид удален
IFN- γ	P01579	Caggatccctacgtgaaggaagcagaaaatctcaaaaagtatttcaatgcgggc catagcgatgtggccgataacggcaccctgttctggggattcttaagaattggaa agaggagtctgataggaagattatgcagtcagatcgtgagcttctattcaagct gttcaaaaactcaagacgaccagtcgatcaaaaatctgttgagacaataaaag aggacatgaatgtgaagtttttaattcaaaaagaagcgcgacgattttgaga aattaacgaactactcctcaccgactgaacgtacaacgaaaggctattcacgaa	Сигнальный пептид удален, пропептид удален

		ctaaccaggatcatggctgaactgagtcctgccccaagactggtaagcgtaaac ggagtcagatgctcttttagagga (SEQ ID NO: 34)	
TNF-α	P01375	Gtgcgatcttcaagccggacaccctcagacaagccagtgccacacgtggtagc gaaccacaagctgaggggagctccagtggtcaatcggcgtgccaacgccc tgtagccaatggggtcagcttagggacaaccaactgtggtaccctcggaagg attatactgattacagtcaggtgctgttcaaggacagggctgccctccacacat gttctgctcactcacagatctcccgcattgagtgctttatcagaccaaggtcaac ttgctaagcgctatcaaaagtcctatgtagagagagaccccgagggtgctgag gctaagccttggtacgaacctttatctgggaggagctttcaactggaaaaaggt gatagactgagcgcagagatcaataggcccattacctggacttcgccgaatccg gccaggtttatttgggataatcgccctc (SEQ ID NO: 35)	Растворимая форма (ТМД удален) — Wang et al 1985
IL-1β	P01584	Ggcctgtcagaagcctcaactgcacgctgagggactcacagcaaaagagcct ggcatgagtgcccctacgagctgaaagcactccacctcaggggagggacat ggaacaacaggtggttttccatgctttcgtacagggagaggagttaacgata agatccccgtgcttgggcttaaaagagaaaaacctgtatctgagctgtgtgcta aaggacgataagccacacttcagctcagtcagtcggtgatccaaaaaattatcaaa gaagaaaatgaaaagcgggttgtgttaacaagattgagattaatacaaaatgga attcgaatcagcccagttccctaattggtacatcagtaacctcgaagccgaaaat gccggtgtttcgggagggaccaaggtggccaggatataacagacttcactatg cagttgtctcgtcc (SEQ ID NO: 36)	Пропептид удален для зрелой формы
IL-6	P05231	Gtgcgcccggggaagatagcaaggatgtggctgctcctcacaggcagccact gacaagcagcgagagaatcgacaagcaataaggtatattctgatggaatcagc gcgctgcgaaaggagacatgtaacaagtgaatgtgagcttccaaagaa gcaactgctgaaaataatctgaacctccaaaaatggccgagaaagacggctgct ttcagtcgggttttaacgaggagactgttttagtaagattataacgggcttggga attcgaagtctacctagaataacctccaaaatagattcgagagtagtgaggaacagg cccgcgctgtcagatgtcaaaaaaggttgatccaattctgcagaaaaagcc aagaacttagatgcaatccacacactgacccactaccaatgcctctctgctcac caagctgcaagcccagaaccagtggtgcaggacatgactaccatctaattctg cggtctttaaggagttcctccagtcacccctgcgtgcacttcggcagatg (SEQ ID NO: 37)	Сигнальный пептид удален
Субъединица р35 IL-12	p29459	Cgaaatctgccagtggtaccctccgacccgggcatgttccctgcctccatcata gccagaatctgctcagagcggtcagcaaatgctacagaaggcccgccagacct tagagttttaccctgcacctctgaggaaatgatcacgaagacatccaaagat aagactagcaccgttgaagcctgtctccattggaacttcaaaaaatgaatctgt ctgaattccagagagacatctttatcactaatggaagttgcctcgccagtcggaaa acttcttcatgatggccctgtgtctgagttcaatctcagggatcctaagatgatca agtggaaattcaaacgatgaacgcaaaactgttgatggatcctaagaggcagata ttttggatcagaacatgttagctgtgatcgacgagctgatgcaagcactcaactc aactcagagacagtcccccagaagtctcctggaggagcctgacttctacaaga cgaaaattaagctatgattctgcttcacgcattcaggatacgggcccgaacaattg accgtgtgatgagctatctgaacgcttcg (SEQ ID NO: 38)	Сигнальный пептид удален
Субъединица р40 IL-12	P29460	Atctgggagctcaaaaaggatgtttatgtggtcgaactgactggtaccggagc caccaggggagatgggtgtgactgcgacacccccgaagaggacgggatt acatggactttggaccagtcagtgagtcctgggctcgggaaagaccctgacta tccaggtgaaggagttcggagatgctggacaatatacatgccacaagggcgggg aagttttgagccattccctcctgctgctgcataaaaaagaggatggtatttggagca ctgatattctgaaagaccagaaggaacccaagaacaaaacttttctgcggtgtgag gccaagaattacagtggaagattcacctgttggtggttaaccacaatctctaccgat cttacctttccgtcaaatcaagtcgaggcagcagcagatccacagggcgtgacgt gaggcgtgccacactaagcgggagagagtgctggggtgacaacaaggaata cgagtactccgttgagtgtaagaagactctgcatgccctgccgagaggaatca	Сигнальный пептид удален

		ttaccgatcgaagtaatgggtgatgctgttcacaaactgaagtatgaaaactacact tcttcattttcataagggacattatcaagcctgatcctccaaagaacctccaactaa accactcaagaatagccgtcaggtagaggtgtcctgggagtaccccgatacctg gtcaacgccccactcatatttccctgacgttctgtgtgcaggtgcaggggaaatc caagagggagaagaagacagggctttacagataagacatctgccactgtcatc tgcagaaaaaatgcctctatatccgtgcgagcccaggaccgctactattctagtag ctggagcagtggtggctagtgtacctgttcg (SEQ ID NO: 39)	
--	--	---	--

Таблица 4b – Кодон-оптимизированные последовательности ДНК эндогенных белков (противовоспалительные цитокины)

Название	Uniprot	Кодон-оптимизированная последовательность	Примечания
IL-4	P05112	Cacaagtgtgatattactccaagaataatcaagacctgaacagcctaaccgagcag aaaactctctgtacggaattgaccgttaccgatattctgcagctagtaagaatacaactga aaaagagacgttttgcgtgccgacagctctgaggcagttttatcacatcacgagaaa acaccgggtgccttggggcaactgcccaacagtttcatcgccacaacagctgatcagatt cttgaagcggctggacaggaatctctggggattagctggcctgaattcttggccccgtgaag gaggcgaaccagagcactctggagaactcctggaacgactaagacaattatgagaga gaagtactccaatgctcctct (SEQ ID NO: 40)	Сигнальный пептид удален
IL-10	P22301	Tcaccggacagggactcaatctgaaaatagttgacccatttccaggaatctgccta acatgctgagggacttacgcatgcatcttgcgtgtaaaaacattcttcagatgaaagatc aactggataacctgttgctaaaagagagcctgcttgaggattcaagggctatctgggctgt caggcgtctccgaaatgattcaattctacctgaagaggtgatgccccaggccgagaac caggaccagacatcaaggccacgtgaattctctgggggagaatctgaaaacgctcag attgcgactcagacgggtccacaggttttacctgtgaaaacaagagcaaagccgttgag caggtcaagaacgttttaataaagcttcaggaaaaagggatctataaggcaatgtccgagtt cgacatattcattaattacattgaggcttacatgaccatgaagatccggaac (SEQ ID NO: 41)	Сигнальный пептид удален
IL-13	P35225	Ttaacatgtctgggcggttcgctcacctggaccagttccccctcaaccgctctcagag aactgattgagagctcgtcaatataccccaagcaaaaagccccactctgcaatggaa gtatggtgtgtctattaactgactgccggcatgactgtgccgactggagtctttgatca acgtgtccgggtgcagtgcaatcgaagagcgcagcggatgctgagcggcttttcccc cacaaggtgagcgtggtcagtttccagccttcacgtgcgagatacaagatagaagtag cgcagttcgtcaaggacctgctgctcatcttaaaaactatttcgaggggtaggttcaat (SEQ ID NO: 42)	Сигнальный пептид удален
IL-18	Q14116	Tattttggcaaacgcgaaagtaagctgagcgtgattcggaaatctaacgatcaggtgttattc atcgatcaaggcaacagaccactcttgaagatatacagagattcagactgtagggataatg cccctaggaccatctttattataagcatgtataaggactctcagccccggtatggcagta acgattagcgttaagtgcgagaagatttctacatttcatgcgaaaaaaaatcatctccttc aaagagatgaacctcccgataatatcaagataccaagtcggacataatttctttcagag atccgtcccaggacacgacaataagatgcaattcgaatccagcagttacgagggatacttt ctggcttgtagaaggaacgtgacttgtcaaacgatcctgaagaaagaggacgagcta ggggaccgatctatcatgttactgtgcagaacaggagac (SEQ ID NO: 43)	Сигнальный пептид удален

Таблица 5a – Кодон-оптимизированные последовательности ДНК эндогенных белков (рецепторы провоспалительных цитокинов)

Название	Uniprot	Кодон-оптимизированная последовательность	Примечания
----------	---------	---	------------

IFNAR1	P17181	aagaacctgaaatccccacagaaagtcgaggtggacatcatcgatgacaatttcac ttaagatggaaccgtagcgatgagtcgctcgaaatgtcacattttctttgattatcag aagaccgggatggacaactggattaagctgtccggttgccagaacataaccgtagc caagttaactcagcagcctcaactcaatgtatatgaggaaatcaagctgaggatc cgggccgagaaggaaaacacaagctcctggatgaagttgattcattactccatttc gaaaagcgcaaataggacccccggaagttcacctcgaggctgaagataaagcaatt gtaatacacatatcgctggcaccgaagactctgtgatgtgggctttagatgggctgt cattcacgtacagcctggatctggaagaacagttctggggtggaggagagaata gaaaacatttatagtcgccacaaaatctacaaattgtcacccgaaacaacctattgcct gaaggtcaaggcggcactattgacgtcctggaagatcggcgtgtactcaccagtgc attgtataaagacaacagtggaacagcctccccgcccggagaatattgaggttt ccgtgcagaatcagaattatgtgtgaaagtgaggactacacatatgccaatatgacctc caggttcaatggcttcatgcatcttctgaaaagaaaccctggtaaccacctttacaatg gaagcagattcctgactgcgagaatgtcaagaccacacagtcgctgtttcctcaaaa cgttttcagaaaggcatctatctgctacgggtcaggctccgatggcaataaacct cattttggagcgaggaaattaattcgacactgaaatccaagccttctactcctccc gtatttaacatcaggagtctgtctgatagctccatattacatcgggtgctcccaagcag tctggaaacctcccgtgatccaggattaccccctcatctacgagatcattttctggga aaacaccttaacgccgaacggaagattatagagaagaaaactgacgtcactgtgc ctaacctgaaaccattaactgtctattgcgtcaagctagggccacacatggatga aaaactgaacaagtctagcgtgttcagcgcagcagttgtgagaaaacgaagccag gaaatacttcaagatttggcttctggtggcatttctgctctgttcgactgcccttt gtaatctacgccccaaggttttctccgctgtattaattatgtgttttccatcctgaa gccatcatcgtcgattgacgagacttctctgagcaacctcttaaaaacctgtgtgtc caccagtgaagagcagattgagaatgcttattatcgaaaatattcaacaatgcc acagtgaggagacgaatcagaccgagcaggaccataagaagtacagcagtcag acatctcaggattccgggaattacagcaatgaagatgaaagtgaatccaaaactagc gaggagctccaacaggactttgtg (SEQ ID NO: 44)	Сигнальный пептид удален
IFNAR2	P48551	atcagctacgactccccgattacaccgacgagtcctgtacctttaaatactcctacg taactcaggtccattctctctgggaactgaaaaaccatagcattgtccgactact atacactgctgtataccataatgtctaaaccgaggatctgaaggtggtgaagaactg tcgaaacaccacaagatccttctgcgacctgacagatgagtgccgatcccatga agcctacgtcacggctcctcgagggttcagcggtaataccacatttccagctgctca cataacttttgggtggccatcgatattgctcttgaaccaccgagttcgagattgtcgg ttcacaaccacatcaatgtcatggtgaaatttcttctattgtcgaggaagaactcca gtttgattgagcctcgtgattgaggagcagtcagagggaaatcgtaagaagcataa gcccgaataaagggaatgatgagggaactcactacataatcgacaagctcat ccccaacgaattattgtgtcagtgatctcgagcactcggatgagcaagccgtg atcaagtctcacttaagtgcactctcctgccgagccaggagtcagagagcgt gaatcggctaagataggcgggatcattaccgtcttctcactgcactggtgtgacttc tactattgttaccctgaagtggatcggatacatctgcttgcgcaactcttccaaaagt tctaaactttcacaattttctggcctggcccttccccaatcttctccttggaggccatg gacatggtgaggttatctatataaatcggaaaaaaaaaagctgggactacaattacg atgacgaaagtgactcagacacggaggccgcaccaaggacctctggagggggct atactatgcacggcctaccgtgagacctttaggacaggcatctgctacaagcactga aagccagctgattgaccagagagcaggaagagcctgatctaccagaagtggat gtagagctgccgacaatgcctaaggactcccccaacagctcgaactgttgagcgg cccttgtaaaggcgcaaaagtcccttgaagatccgttccctgaagaagactatag cagtaccgaaggatccggcgtcggattacattcaactggtgatttaaatagtattttt acgggttctggacgataggacagtgatgatctggaggcggccccttatctgtctc ccatctggaggagatggttagaccgccgaagatccagataacgtgcagctaatcacct tctggctccggggaaggactcagccaaccttctagtcttctcagagggttat	Сигнальный пептид удален

		ggtcagaagacgcaccaagcgatcagtcagacacaagtgagagcgacgtagacct cggggacgggtacattatgaga (SEQ ID NO: 45)	
IFNGR1	P15260	gaaatggggactgccgacttgggacctagcagtggtccccactcccaccaacgtgac catcgagtcttataatatgaatcctattgttattgggaatatcagatcatgcctcaggtt ccagtggtcactgttgaagtgaaaaattacggagtgagaactcagagtgatagac gcttgcataaacatatctcaccactgcaatattccgaccacgtggggcgaccca gcaacagtttgggtcagagtgaaagctcgcgtggccagaaggagagtgcttat gcaaaaagcgaagaattcgcgtttagagatggcaagatcgggcccccaatt agacattcgcaaagaagaaaaacaattatgatcgatatcttccatccctctgtcttcg tcaacggcgacgaacaggaggtagattatgatccagagacaacgtgttacatcagg gtatacaacgtttacgtgaggatgaatgggtcagagatccagtataagatcctcactc aaaaggaggacgactgtgacgaaattcagtgtaactcgccatcccagtgcttcgc tgaatagccagactgctgtctgccgagggtgtgcttcacgttggggagtcacaa ctgaaaagtccaaagaagttgtattaccattttaacagctctatcaagggtccctgt ggataccagtggtggcgactgctgctgttcttactcagcctggtcttcatctgc ttctatattaagaagatcaaccctctgaaggagaagagcatcatactaccaagtcgc ttatctcagtcgtgcggtccgccacctagaaactaagcccgaatcaaaatgtatc cctgatcacaagctaccagccatttcattagagaaagaagtcgtgtgcgaggagcc tctgtccccagcaactgtgccaggtatgcatacggaggacaatccgggtaaagtag agcacaccgaggagctgtccagcattacagaggtcgtcaccacagaggagaacat accgatgtggtgctggaagtcctcacacctattgagcgtgaatctagcagtcct ttgtcttcaatcagagtgaaaccggggagtattgcattaaactcctaccactcccgaa ttgcagcgaagcgaccactcgagaatgggttgataccgatagttctgtctggaa tcccactcatcactgagcgattctgagttccgcaacaacaaggcgcaaataaa acggagggacaagagctcatcacgctcaaggctccaaccagtttggttacga caagcctcatgtttgggtgagctgcttgggatgactcaggcaaggagtcctcattg gataccgacctacagaggattccaaagagtttagc (SEQ ID NO: 46)	Сигнальный пептид удален
IFNGR2	P38484	Gccccctgactctctcacagctaccgccccacagcatccaagataagact gtacaatgccgagcaggtgcttagctgggagcccgtggcactatcaaacgtacga gaccgtggtgtaccaggtacagttcaagtacacagacagcaagtggttaccgctg acattatgagcattggagtcattgcaactcagatcaccgcaaccgagtgactttac agcagcttaccctccgcccgattccctatggactcaacgtcactctgcggcttctg gcagaactggcgctcttattccgctgggtgacaatgccttgggtccagcactatc ggaacgtcacgtagggccccctgaaaatatcgaagtaaccctggagaaggttc gctgataataaggttcagctctccgttgacattgctgatacatccactgcgttctctg ctactatgtgcactactgggagaaggcgaggattcaacaagtgaaggccattca ggagcaacagtatcagctcgcacaacctgaaacctctcgcgtctattgcctcaagt gcaggctcaactgctgtggaacaaaagtaataatttccgagttggccacctgtctaat atctcctgttatgagaccatggccgacgcatctacggagttgcagcaggtcatcctca ttctgtgggcacatttccctgctgtcggttctggccggtgcctgtttttctcgtttga aataccggcgtgatcaataactggttcataccccaccatcaataaccattacagatc gaagagtatctaaagatccaactcagccaatttagaggcgtcgcgataaggactcta gcccgaaggacgatgtgtgggattccgtgtccatcatcagcttccgaaaaggag caggaagatgttctgcaactttg (SEQ ID NO: 47)	Сигнальный пептид удален
TNFR1	P19438	ttggtaccatcttggcgaccgagagaaaacgggatagtgctgtccccaggaa atatatacaccacagaataactctatctgctgcactaagtgcataaaggaaacgtac ctttataacgactgccaggccccggcaagatactgactgcagagagtgagagct gggagcttaccgctccgagaatcacttgagacattgctgagttgtagcaagtgc aggaaggagatggggcaggttgagatctcatcatgtaccgttgatcgggacaccgt ctgtggatcccgcaaaaatcagatcggcattattggtccgaaaacctattcaggttt taactgttcttgtcctgaacggaacagtcacacctgagttgcccaggaacagaat acagtttgacttccacgctggctttttctccgcgagaacgaatgtgtgtcctgttcc	Сигнальный пептид удален. Мембраносвя занная форма

		<p>aattgtaagaagtctctagaatgtacaaagctgtgtctgccccaaatcgagaacgtga aaggaactgaggacagtgggtacaaccgtgttctgctcctctggatcttctcgggct ctgctcctcagctctgctttcattgggctaattgtaccgggtaccagcgttggaatctaa gttatactcaattgtctgtgggaagtccaccctgagaaggaaggagaactggaagg tactaccaccaaacctggctccaaaccctccttctctctacaccggctttactc ctacctgggcttctaccgggtcccagctcaacgttaccagctcgagcacataca cccctggcgattgtcccaacttcgcagcaccaaggcgtgaagtggccccacctac caggggtgctgatccaatacttgcaccgcattagccagcgcattcctaactcttt acagaagtgggaggattcggcccacaaaccagagcctggactgacgaccc cgccacgctgtatgctgtggtcgagaatgtaccgctctcagatggaaggaatttgtg aggcgactgggctgtccgatcacgagatcgacagactggagtggcaaatggtcg atgctcggggaggcccagtacagcatgctggctacatggaggaggcgcacact cgcaggaggcgactctgaattgctgggacgcgtgctcagagatatggacttactc ggatgtctgaagacattgaagaggcgtctcggcccagcagcctgcctccggc accatcctgctcaga (SEQ ID NO: 48)</p>	
TNFR2	P20333	<p>ctgcctgccaggtcgttttacaccatgacacctgagcctggttcacgtgtaggct tagggagtactacgatcaaaccgctcagatgtgttctcctaagtgtagtccaggcca gcacgcaaaagtctttgtacaaagacgtcagataccgtgtgacagctgcgaaga tagcacctataccagctgtggaattgggtcccgaatgtttgtctgtggctcccgt gctctagtaccaggtggaacacaggcctgactcgggaacagaaccgtatttgt acctgcaggcccgttggactgcgactgtccaacaagaggggtgtagactgtg tgccccttgcgaagtgtcgtccaggcttcgggtggcaagacctggaacagagac ttcagacgtcgtttgtaagccctgcgcccctggcacatttccaataccacctatcta ccgacatgacagaccccacaaatgcaacgtggtggctatccctgggaacgcc tccatggacgtgtttgcacttccacttcccactcggctatggctcccgggtgccgt gcatttaccacaaccgtgagcactcggagccaacacacagccaacaccggag ccaagtaccgccccgagtaccagcttctactccccatgggcccacttccaccggct gagggatctaccgggattttgctctgcctgtcgggtaatcgtcggggtgacggcg ctcggattgctcattatcgagtggttaaactgcgtgattatgactcaggtgaaaaaga agcctttatgcctccagagagaagcgaagtccccacctgctgacagaaggcc aggggtacacagggcccggaaacagcaacatctgctgatcaccgccccttcaag ctccagcagcctggaatccagtgcagtgactgatcggcgcgaccaacgcga aaccagccccagggcctgggtagaggcatcaggcgcctggagaagcgcgcgct agcacaggcagttccgattccagccctggagggcatggaacacaggtaatgtcac ctgcatcgttaattgtgtcgtcctcggaccacagcttcaatgttcaagccaggcct caagcactatgggacactgatagcttccctccgagtcaccgaaggacgagca gggtccatttagtaaaaggagtggtccttccgaagtcagctggagacaccagaaa ccctgcttgggtctactgaagagaaccactccttggcgtgccagatgcgggaa tgaagccgtcg (SEQ ID NO: 49)</p>	<p>Сигнальный пептид удален. Мембраносвя занная форма</p>
IL-1R1	P14778	<p>ctcgaggccgataagtgcaagaaagagaggaaaaaatcattctggtttctagcgc aacgaaatcgatgtccgcccctgtcactgaatcctaacgagcataaggggactata acatggtataaggacgacagcaagaccctgtgtctacagaacaagcaagcaggat acaccagcacaagaaaagccttggttgtaccagcaaaaggtcagggacagcggg cattattattgcgtggtacgaaacagttctactgcctcagaatcaagattccgctaag ttgtcgagaacgaacctaactatgttacaacgcacaggctatttttaacagaagct cccagttgctgggatggcggcctgggtgtcctcatatggagtttttaaaatgag aataatgagctacctaaactgcaatggtacaaggactgcaaacccctttgctcgaca atattcactcagcggagtgaagatcggctgattgtgatgaacgtggctgagaaac accgcccgaactatacatgccacgcttatacgtacctgggcaagcagtaaccg atcactagagtgattgaattataaactggaagagaacaagccaactgcctgtcat agtatccccgcaaacgaaacctggaggtggacttgggttctcagatccagctgat ttgcaatgttaccgggcaattgagtgatcgcctattggaagtggaatggtctgtcat</p>	<p>Сигнальный пептид удален. Мембраносвя занная форма</p>

		<p>tgacgaagacgatccagtgttaggagaggactattatagcgtagaaaaatcctgcgaa caagaggcggtcgactctgataactgtcctgaacatcagtgagatcgagagccgatt ttataaacatccattcacatgtttcgcaaaaaatacacacgggatcgacgccgctac attcagctgatctaccccgtaaccaattccagaagcacatgatcgggatatgctgga cgtaaccgtgatcattgtttgctcagtggtcattacaagatctcaagatcgacatcgt cctttggtatagggatagctgttacgactttctgccattaaggcatcggatggcaaaa cctacgacgcttacatctgtacccaagaccgtgggagaaggctcaacctccgact gtgacatttctgtcttaagggtcctcctgaggtcctcgagaaacagtggtgctataaa ctgttcatctatggccgggatgactacgtgggagggatatagtgaagtcataaatg aaaatgtaagaaatcacggaggctgatcatcattctagtgcgggagacctcagggtt ttcctggctcgccgctcctcagaggagcagattgcgatgtacaacgctctgtgca agatggaatcaaggtgggtctgttgagctgaaaagatccaggattacgagaaaat gcccagagacattaagttcatcaaaaaaacacggagccattagatggagtgggtg atcacgcaaggaccgagtcgccaagacacggttctggaaaaacgtgcgctatc atatgccgtgcagaggagatcccctcagtaaacatcagctgttatctcggcga ctaaggaaaagctcagcgcgaagcccatgttctcttga (SEQ ID NO: 50)</p>	
IL-1R3	Q9NPH 3	<p>tccgagcgggtcgcgatgattggggcttagataccatgcggcagattcaggtgttcgaa gacgagcctgctcgcattaatgccgctctttgagcacttctgaagttaattacag cactgctcactccgcaggactcacactgatctggtattggacacgccaagacagag atctggaggagcccattaattttaggtcctcccgagaacaggatcttaaggagaagg acgtgctgtggtttcgccgacactactgaacgatactgggaattacacatgtatgctt cgaaatactacctattgctccaaggtggcttttccacttgaggtggtgcagaaagaca gctgttttaatagcccaatgaaactgcccgtcacaagctgtacatcgaatatggcat acagagaatcacatgccctaacgtcgacggctacttccctagctcagttaagccgac cataacttggatatgggctgctataaaaatacagaactcaataatgtaatccccgagg gtatgaacttgagttcctgatcgcactgatatcaacaacgggaactcacctgtgtg gtgacttatcccgagaacggacgcacattccatttgacaaggacgtaactgtcaag gtagtggtagtcttaagaatgcagttcctcccgtgattcacagccctaatgatcacgt gggtgatgaaaaagaaccaggtgaagaactcctgatcccctgcacggtgtacttctt ttttaatggactcccgaatgaagttgggtggaccatcgacggcaaaaaacctgatga tattaccatcgacgtgacaatcaacgagagcatttcacatagtcggaccgaaagatga gacaagaaccagattcttagcataaaaaaagtacttctgaagacctgaagcgcag ttacgtatgtcacgcgatccgcaaaaggggaagttgccaaggctgccaaggtga agcagaaaagtcctgccccacggtacaccgtagagctggcctgtggcttcggagct acggttttgctggtgttatccttatcgtcgtctatcatgtgactggtggagatggtgct ttttatcgggccatttcgggaccgatgagacgattctagacggaaaggagtagcat atctacgtctcgtacgccagaatgcggaggaagaggaattcgtgctctaacctga ggggagtagtggaaaacgagtttggtacaagttgtgtattttgacagagattcactg ccaggaggaattgtcactgacgagacactctcattcatccagaaatctaggaggtg ctcgttgcctgagtcgaaattatgtgctccaaggcaccaggccttgctagaactga aggcggggcttgaaaacatggcctctcgcgggaacatcaacgtaattctggtgcagt acaagcagtggaaggagaccaaggttaagagctgaaacgagccaagacagtcct cactgtcatcaagtggaaaggtgaaaaatcaagtatccacaaggagattctggaa gcagctcaagtcgctatgccgtgaaagtcctccctcgtctcctcctcggacga cgagggcctgagctacgctctcaagaatgct (SEQ ID NO: 51)</p>	Сигнальный пептид удален
IL-6Ra	P08887	<p>cttgaccaagacgctgtccggctcaggaagtcgctaggggagtgctgacctcgt gccgggcgactccgtgacctgacatgtcctggagtggagcctgaggacaacgca acagttcactgggtgctacggaagcccgcgctggctcccctcctcaggtgggc cgggatggggcgcagactgcttctcagatcagtgacgttacatgatagcggtaatta cagctgctaccgcgctggaaggccggcagcactgtgcacctcctagtgatgttc cacctgaggagccacagttgagctgttcgaaaaagtccttcttaacgtcgtatg</p>	Сигнальный пептид удален. Мембранозванная форма

		<p>cgagtggggccctagatcaactcctccctcaccaccaagcgggtctctcgtacg taagtccaaaactctcctgccgaagattttcaagagccatgtcagtatagccaggag agtcagaagttctcatgccagctgagctcccggagggtgactcatccttctatattgtt agtatgtcgtcgcctcgtctgtggggctaaagtttagcaagactcaaaactttcaggg ctgaggcatcctccaaccagacccccctgccaacattacagtgaccgcagttgcca gaaaccctaggtggtgagcgtgacgtggcaggatccccattcctggaattcatcatt ctacagactgagggtcagctccgatacagggcggaacgtagcaagacattacca cgtggatggtcaaagacctgcagcaccactgtgtaatccatgacgctggagcgggtc tgcgccacgtggtccagctgaggcacaagaggaattcggacagggtgaatggag tgaatggtctcctgaggctatgggcactccgtggaccgaatctcggctccaccagc cgaaaacgaagtgtccaccctatgcaggctctgactactaataaggatgacgataa tatctgtttaggactccgcaaagtctacatcactgctgtacaggattccagtagtgt tccctaccaaccttttagtcggcggagggtctctggcgttcgggacggtgctctgta tagccattgtgctgctttcaaaaagacctggaaactgcgcgccttaaggaggaa aaacaagcatgcacccccatattcttgggcagctggtgcccgaacggcccaga ccaacaccagtcctggtgctcttataccccccgtgagccccttagcctgggc agtgacaataccagtagccataataggccgacgcccagaccctcgtccccata cgatatctcaaacacagatttttttccccg (SEQ ID NO: 52)</p>	
gp130	P40189	<p>gaactcctggaccctgagggtatattagccccgagctctcccgtggtgcaactgcatt ctaactcaccgcagttgtgtgctcaagaaaagtgtatggattacttccatgtaacg ccaactacattgtgtgaaaactaatctttacgataccaaggagcagtacacaatt atcaacagaaccgcatcatccgtcacatttaccgatatcgcctcctgaacattcagct gacatgtaatatcttaacattcggtaactggaacaaaacgtgtatggcatcacatca tctctggacttctccagaaaaacccaaaattgtcgtgtatcgtgaatgagggaaa aaaaatgcgctgtgaatgggacggggccgggagactcacctcagacgaacttc accctaaagtcagagtgggcgacacataaattgccgactgcaaagcaagagaga taccaccactcctgcaccgtcactattcaactgtgtacttcgtcaacattgaggtgtg gggtggaggcggagaatgccctggcaaggttacttccgaccatcaactttgatcc cgtctacaagtgaaaccgaaccaccccacaacctgtccgtcattaattcagagga gctaagtctatactcaagtaactggacgaatccctccataaagagtgaattattctc aagtataacatccaatataaggactaaagatgctcaacctggtcacagatcccaccgg aggacaccgctctacaaggtcatcgttaccgtgcaggatcttaagcctttaccga gtatgtgttcagaatccgatgcatgaaaggagcggcaaggggtattggagcgtattg gagcgaagaagctccggcattacctcagaggacaggccttcgaaagcactcttt ctggtacaaaatcgatccttctcactcagggtaccggaccgtgcagcttgtgtgg aagactttccaccattcagaggcaaatggaaagatactggattatgaggtcactg accgctggaagaagtcactgcagaactatacagtaaacgccacaaactgacagt caatctactaacgatagatatttagcaaccctgactgtacgaaacctggtgggaaa tctgacggcggtactgactatccctgctgtgactttcaggctaccaccctgttat ggatctgaaggccttccctaaggataacatgctatgggtcagtgaccacaccaa gggaaagcgtcaaaaagtattctcgagtgggtcgttctgagcgacaaggcccat gtattacagactggcaacaggagcgggacagttcatcggacatatctgcgcggc aatctagctgaaagtaaatgctacctatcaccgtcacgccagtctacgccgacggc ccgggctctccagagtcaatcaaggcttacctaaagcaggccccctccctcaaggg gccaactgtgagaacaaaaaggtaggtaagaatgaagccgtcctggagtgggat caactgccagtggtacagaacggtttcattcgcaactacaccatctttacagga cgatcattgggaatgagacagcagtgaaactggattctccataaccgaatacacgc tcagcagctgacgtcggacacattgtacatgggtcaggatgggtcatatacagacg aaggagggaaggatgggctgagttcaccttaccaccctaagttcgtcagggc gagattgaagcaattgtggtgccgtatgcctggcctttctccttacgacactgctggg tgttctctttgcttaataagcgggacctcatcaagaaacacattggcctaattgtcc cgacccagcaaaagtcacatagcccagtgaggccctcactccccccgctcata</p>	Сигнальный пептид удален

		<p>atTTtaataGcaaggatcagatgtacagcgacggcaatTTtacagacgtgtccgtcgtc gaaatagaagctaataGaaagccctTTcctgaagacctgaaatcctTggacttatt caaaaaggagaagatcaataccgaagggcactcctcagggatagggggcagcag ttgatgtcctcatcccgtcctctatcagctccagcgatgagaacgagagcagcca gaatactagttccactgttcagtacagcactgtagttcacagtggctatagacatcagg tcccagtggttcaggtgttctccaggagtgaatctaccagccggtgttagactcaga agaacgcccagaagacctgcagctggTggaccacgtggatggaggtgatggcatt ctgccgcgccagcaatactTaaGcagaactgttctcagcatgaatccagccctgac atctctactTTgagcgaagcaaacaggtgtcaagcgtgaacgaagaggatttcgttc ggctTaaGcaacagatatctgaccacatctcacaatcctgcggaaGtggaacaaatga agatgtttcaggaggttagtgccggccgatgctttcggccctggcactgagggtcagg tggaagattcgagacagtggtgatggaagccgctacagatgagggaatgcccaa aagctacctcccaaaaccgtgcggcagggaggatatatgccacag (SEQ ID NO: 53)</p>	
IL-12-Rβ1	P42701	<p>tgcagaactagcgaatgtgtttccaggacccccgatcccagcggcattccgga agcgcacccggaccacgtgacctgcgggtctatcggatttctagc gataggtacgaa tgctcatggcagtagcagggggccactgctgggggtgagtcacttctaagatgctgtt taagttccgggagggtgctgctatttcgccgcagggtcagctactcgactacagtttct gaccaggctggagtaagcgtgctttatacagtgacactgtgggtcgaatcctggggcc aggaaccaaaccggagaagtcaccgaggtgacctgcaactgtataactcagTcaa atacagcctcctctgggtgacattaaagtgtcgaactcggccgacagcttagaat ggagTgggagacccccgataaccaggtTggcgcagaggtgcagTtccggcaccg aacaccctcatctcctTgaaactgggcgattgtggtccgcaggacgacgataccga gagTtgcTtgtcccctagagatgaatgtcgcacaggagTttagctgaggaggcg tcagctcggcagccaaggcagTtctTggTcaaaatggTcctccccgtctgcgtccc cctgaaaatcctccacagccgagTtccgattcagcgtggaacaaactcgggcagga cgggagacgccgctgactctTaaGgagcaaccaacgcagctcgaactcccagaa ggTtgcagggcctggcacctggcaccgaggtgacctaccgtTgcagTtacatag cttagTtgcctTgtaaggccaaggctacacggaccctTcacctaggcaaaatgccaT acctaaGcggtgctgcatacaacgtggcggTcatttctTcaaccagTtccgaccg gtctgaatcagacctggcacatccccgagataccataccgaacctgtggcgctg aatacagcgtgggcacaaatggcactacgatgtattggccggcccgcgctcaatct atgacttactgcatcgaatggcagcctgtTgggcaagatggaggactcgcgacatgc agccttactgccccgaggacctgatccagcaggtatggccacttattctTggagc cgcgagTcggggccatgggacaggagaagTgtTactacatcaccatattTgcTca gctcatccagaaaagctgacctgtTgTcaaccgtTctgagcacataaccattcggg ggcaatgcgtccgctgcaggcacccacaccacgtgtcggTgaaaaaccactctct ggacagTgtgagTgtTactgggccccaaGcctgtTgtccacatgtcccggggTgct caaggaaTatgtTgcgctgtcGagacgaggactccaacaagTgtcggaaatcc cgtacagccaacggagaccaagTactctgtctggactgagagccggcgTggcct acacagTccaagTcgggcagatacagctTggtTaccggggcgatggagccagcc acaaggTtCagcattgaggtacaggtctctgattggTtattttTgCagTctggg cagTtttctctatcctgtTgTcggagTgtTgggctatctgggactgaatcgcgccgc cagacatctgtccccccactcccaaccccatgtgcctcctccgcatagaatttct gggggTaaagagacatggcagTggatcaaccctgtagactTccaggaggagTcta gcctccaggaagccctgTgtggaatgtcatgggataagggcgagagaacgga acctctcgagaagactgaactTcccgaggagctctgagctcgcactTgacacag aactgtctTtagaggatggggataggtgTaaGgctaagatg (SEQ ID NO: 54)</p>	Сигнальный пептид удален
IL-12-Rβ2	Q99665	<p>aaaattgatgcgtgcaaacgcggcgatgtgacctgaaaccgagccatgtgattctg ctgggcagcaccgtgaacattacctgcagcctgaaaccgcgccagggtgctttcat tatagccgccgcaacaaactgattctgtataaattgatcggcattactttcatcat</p>	Сигнальный пептид удален

		gCGGgtccgccaactggagtgagtggtctcatcctattcactggggcagcaa cacgtccaaggagaacccttctgtttgctctggaagctgtgtgatttcagtaggct ctatgggattaatcatcagcctcctgtgtgtctatTTTTGGctggagcgaacaatgcc aggatccccactctcaaaaatctggaagacctgtgacggagatcacggcaactt cagcgcgtggctggcgtctctaaaggcttgcgagagcctgcagcctgattaca gtgagcgttatgcctggtagcagataaccacctaaggaggagcccttgggta aggaccgggggcatccccctgtaatacaactcaccatactggggccccccctgc tataccctaaagcctgaaact (SEQ ID NO: 57)	
IL-13Ra1	P78552	ggcgggcgggcggcgCGcgccgaccgaaaccagccgCGggtgaccaactga gcgtgagcgtggaaaacctgtgcaccgtgatttggacctggaaccgCGgaag gcgcgagcagcaactgcagcctgtggatatttagccatttggcgataaacaggata aaaaaattgcCGgaaaccgCGcagcattgaagtCCgctgaacgaacgca tttgcctgcaggtggcagccagtgcagaccaacgaaagcgaaaaaccgagca ttctgtggaaaaatgcattagcccCGgaaggcgatccggaagcgcggtga ccgaactgcagtgcattggcataacctgagctatatgaaatgcagctggctgCG ggCGcaacaccagccccgataccaactataccctgtattattggcatcgcagcct ggaaaaaattcatcagtgcgaaaacatttgcggaaggccagtatttggctgcag ctttgatctgacaaaagtgaagatagcagcttgaacagcatagcgtgcagattat ggTgaaagataacCGggcaaaattaaccgagcttaacattgtCCgctgacca gCCgctgaaaccggtatcCGcgcataaaaaacctgagcttcataacgatgat ctgtatgtcagtgggaaaaccgCagaacttattagccgctgCctgtttatgaag tggaagtgaacaacagccagaccgaaaccataacgtgtttatgtgcaggaagc gaaatgcgaaaaccggaattgaacgcaacgtggaaaaccagctgctttatg gtCCgggCGtgcctgCGgataccctgaacaccgtgcgCattcgcgtgaaaacca acaaactgtgctatgaagatgataaactgtggagcaactggagccaggaatgag cattggcaaaaaacgcaacagcacctgtatattaccatgctgctgattgtCCggt gattgtggCGggcgcgattattgtgctgctgctgtatctgaaacgCctgaaaattatt atTTtccCGattcCGgatccggcaaaatTTtaagaaatgttggcgatcagaa cgatgataccctgcattggaaaaaatatgatatttatgaaaaacagaccaagaaga aaccgatagcgtggtgctgattgaaaacctgaaaaagcgagccag (SEQ ID NO: 58)	Сигнальный пептид удален
IL-10R1	Q13651	catgggaccgagctcccagtcctccttctgtttggttcgaagccgaattttacc atattctgcactggactcctatcccaaatcaatcagaatcaacatgttacgaggtggc actgctgaggtacggaatcgagcttggaaatagcatttcaactgtagccaaacct gtcttacgatctaccgctgtgacgctggacctgtatcatagcaacggctaccgtgc cagggttagggcagttgatggcagcagacactccaattggacagttacgaataccc gattcagtgctcagcaggtgacttactgtcgggagtgttaacctgaaattcaca cgggttcatattgggaaagatccagctccccggcaaaaatggccccagccaac gacacatacagagatattttctcattttagagagtatgagatcgaatccgcaagg tgCctgggaattcacaattactcataagaaggtaaaacacgagaacttctcctgctc acctcggcgaagtgggggagttctgctgCaggtgaagccctcggTgcttcac gctcaataaaggcatgtggagcaaagaagaatgtatttctgactcggcagttact ttaccgtgactaacgtaatacatTTTTgcctcgtgctcctgctgctggtgccctgg cctattgcctggcgcttcaactttatgtcggaggagggaagaagctgCCgtccgtg ctgttttaagaaccgtctccctcattttatcagccagcgcctcaccgaaac acaggatactattccccctgacgaagaagcctccttaaagtgtccccgagct aaaaaacctgcacctgcacgggtccaccgatagcgggtttgtagcaccaaacca tccttgcaaacaggagccccagttctgctcctgatccacaccacaggctga cagaacgttgggaaacagagagccccagtcctgggggattcctgttcgtaggg tctagtaatagtagcagatagcgggatttgcctgCaggagccgagcctgtcaccctc aaccggtccgacctgggagcagcaagtaggatctaactcccgCGgagcagatga ctccggcatagacctgtacagaattcggaaaggCGggCGggtgacacacaggg	Сигнальный пептид удален

		<p>cggtccgctctgggccaccattcccaccagagcccaggtccttggcgagga ggacctgcagccgtcgttttcaaggctatctcgtcagacacgatgtgctgaag agaaagctactaagacgggatgtcttgaagaggaatctccgcttacagacggattg ggaccaaagttcggcagatgcctagtggatgaggcgggactacatcctccgcat tagcaaagggctacctgaagcaggatccactagaaatgacactggcctcatctgg cgccctacaggacagtggaaccagccaaccgaagagtggctcttgcctgcttta agctcttcagtgacctgggtatctcagattggagtttgcacacgacctgcccctc tgggtgcgtcggcctcctggggactcttaggaagtttcaatagcgatctcgtcac ctgcctctcatcagtagcttacagagcagcga (SEQ ID NO: 59)</p>	
IL-10R2	Q08334	<p>Atggtaccaccacctgaaaatgtgaggatgaactctgtgaatttaagaacattctc cagtgggaaagtcccgttttctaaggggaacctgaccttcacagcccaactta tctaccgaatcttccaagacaagtgcataataacccttactgaatgcgacttct caagcctgtctaagtatggcgatcacactgccccgtcgtgaccgagtttggcgag agcactctgactgggtgaatataaccttctccccgtcgtatgatactataattggcc accaggtatgcaagttgaagtgtggcagattcgtcgcacatgaggtttctgcccc caaaatcgagaacgagtacgagacctggacgatgaagaatgtctacaacttgg acatataatgttcagattggaaaaacggaaccgacgagaagttcagatcactccg cagtatgattcgaagtcctgagaaacctcgaccttggacaacttactgtgtcaa gtgcgcggctttctccctgaccggaacaaggcaggagagtggtcagaaccgggtg gtgagcagaccaccacgacgagacagtaccagctggatggtagctgtgatcct tatggcctccgtgttcatggttctagctttgttgggctgtttgcccttctatgggtc gtctataaaaagaccaaatacgcgtttcacctagaacagcctccacagcacctc aaggagtctcggggcatcctcatcacaatacactgctgttcttctcctccccctga gtgacgaaaacgatgtgtttgataaactgtccgtgattgcagaagacagtgagtcg gcaaacagaatccaggagatgtgacgctgggtacgcctccggacagggcc cccagagc (SEQ ID NO: 60)</p>	Сигнальный пептид удален
IL-18Ra	Q13478	<p>gcccagagctgcactagccggccccatataactgtggtcgaaggggagccattct atctgaaacattgttctgctccctgccccatgaaatgaaaccacaaccaagagctg gtacaaatctagtgggtctcaagagcacgctgagttgaaccaagatcatctagtag gatcgccctgcatgactgcttctagattttggccggtggaattaaatgacaccgg atcttacttctccagatgagaattacaccgaaatggaagctgaacgtgatacg acgcaacaagcactcatgcttcacagaacgtcaggtgacctgaaaaatcgtggaa gtgaaaaagtctttcagattacatgcgagaacagttactatcaaacgtagtgaata gcacgagcctgtacaaaaactgtaagaacttctgctggagaacaataaaaacct actatcaaaaaaatgcagaattcgaggatcagggctattacagttgtgtcattttct ccaccacaatggtgaagctattcaatataccaagacgttcaacatcaccattgtgga ggatcgtccaacatagtaacctgtgtattgggtcctaaacttaaccacgtggcagtg gagctggggaaaacgtgagactcaattgctcagccttctgaacgaagaggatg ttatttattggatgttggggaagaaatggaagtgaccgaaacattcacgaagaga aggagatgcaaatcatgacaccagaggggaaatggcacgcgagtaaggtcctca gaattgaaaatattggcgaatcaaatctaacgtcctctataactgtaccgtagcatc cacaggcggcactgataactaagtcctttatccttgcgtaaggccgatatggctga catccccggccactgattcacacggggaatgatcattgctgttctgatcctgggtgc agtagtgtgttgggtactgtatgtttatctaccgctggacttagtctgttttatagg cacctgaccgaaagagacgaaacccttacagatggcaagacttatgacgcgttctg gtcgtatcttaagaatgccggcccagagaatggagaggagcacacgttctgctgcg aaatttccccagagtcctggagaagcattttggttacaagctgtgcatcttcgaaag agacgtcgtgccgggtggcgccgtggctgacgagatactcctgatcgagaag tcccgcaggtgatcatagtcctctcaaagcttcatagcaatgaggtgcgggtac gaactcgagagcggactgcatgaggcttagtcgagaggaagattaagatttttg atcgagttacacctgtgactgactttacctcctcctcagtcactgaaactcctaag tctcacagggfactgaaagtggaaagctgataaatccctctcttataatagccggtttg</p>	Сигнальный пептид удален

		gaagaacctattgtacctgatgccagccaaaacagtcaggcctggacgcatgagccgaagtctgccagttctgagcgagtcc (SEQ ID NO: 61)	
IL-18R β	O95256	tttaatatctctggatgcagtacgaagaaattgctctggacatactactaggagcaggaagagttcgtgctttctgcgattaccagaaccacagaaatcccattttgtcacagaaatcgtctttcctaagcaggtcccgaacacctgcccttcatgggctccaacgaccttagtgacgttcaatggtaccagcaaccaagcaatggcgaccctctggaagacatacgcaagagttacccccatattatccaggataaatgacgctacatttctgaccccaggcgtcaacaacagtggtatctatataatgtaggcctaagatgacaaatccccctacgacgtggctgtgtgctcaagatgattctcgaggtgaagccccagaccaatgcctcatgtgagtactccgcctctcacaacaggacctctgctggggctgaccggcagataagctgccatcgctctctgtcagagtgatgcgcagagccctgctgtgacatgggtacaaaaacggaaagctactgtcagtgagcgcctcaaacctattgtagtagcgaagtctacgactatcacaaggcacctacgtgtgctgattatacacagctctgatacgggtctccagttggactgtgcgggcccgtggtgcaggtacggaccatcgtgggggacacaaaactgaagcccagatcctgatccagttgaggacacctggaggtggagctcgggaagcccctgactatctctgtaaagcaagatttgcttcgagcgagtattaaacctgttatcaagtggtatattaagatagcgatctcgagtgaggatcagtgccctgaagccaaatccatcaaatcaactctgaaggatgaaatcattgagcgaatattattcttgagaaggtaccagcgcgatctccgcccgaattgtctgcttctgcaaaaacgcataggcaatactactcagagcgtgcagctgaaagagaagcgtggtgctgcttgtgtacatcctgctcggacaattggtacactcgtagccgtgtggccgctcagccctgctctacaggcattggattgaaatcgtgtgtttacaggacatatcagagcaaggaccagactctggcgacaaaaaggatttcgatgcattcgttagctatgctaaatggtcttcatttctagcgaagctacatcctcctgagcaggaacacttagccttatcactgtttccagatgtgttagaaaataaatatggctatagcctgtgtttgctggagcgcgacgttgaccaggggggtgtatgctgaagacatcgcagcatcaaacgggtccaaggagggaatattatattaagccctaactacgtcaacggctcctcagatttcgaactgcaggctgcagtgaaactggcgtcgtgaccagacgctcaagctgattctcatcagttctgactttcaagagcccagctcttctcctcacctagcaagaaggcgtgagagtcctgccgaccgtgacatggcgaggactaaagtctgtgccgccgaattccagattctggcgaagatgcggtatcatatgccgttaaaaattccaaggtttacttgaaccagctgcggattaccagtcggatctccagtggaaggggctgtctagaaccgagaccaccggaagatccagtcacccaagaatgg (SEQ ID NO: 62)	Сигнальный пептид удален

Таблица 6 – Аминокислотные последовательности сконструированных белков (цитокины)

Название	Аминокислотная последовательность	Примечания
scIFN- γ	QDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLKFKNFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELGANVSGEFVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLKFKNFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELSPA AKTGKRKRSQMLFRG (SEQ ID NO: 63)	Одноцепочечный; Randal et al 2000
cpIL-1 β (89/88)	NYPKKKMEKRFVFNKIEINNKLFEFSAQFPNWIYSTQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSSggggsgggsggggsAPVRSNLNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQDMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPK (SEQ ID NO: 64)	Кольцевая пермутация

scIL-12	IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQ SSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLHKK EDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTIST DLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVEC QEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQGK SKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWA SVPCSGSTSGSGKPGSGEGSTKGRNLPVATPDPGMFPLHHSQ NLLRAVSNMLQKARQTLEFYPC TSEEIDHEDITKDKTSTVEACL PLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIEDL KMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNF NSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLN AS (SEQ ID NO: 65)	Одноцепочечный; р40-линкер-р35, Lee et al 2001
cpIL-4 (38-37)	NTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEKDTRCLGATAQQFHRHKQLI RFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEANQSTLENFLERLKTIMREK YSKCSSggnggHKCDITLQEIIKTLNSLTEQKTLCTELTVDIFAAS K (SEQ ID NO: 66)	Кольцевая пермутация; Kreitman et al 1994
mIL-10	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQL DNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPPQAENQDP DIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENGGGSGGKSKAVE QVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN (SEQ ID NO: 67)	Мономерная форма; Josephson et al 2000
cpIL-10 (58/57)	GYLGCQALSEMIQFYLEEVMPPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKT LLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSE FDIFINYIEAYMTMKIRNggggsgggsggggsSPGQGTQSENSCTH FPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLKESLLEDFK (SEQ ID NO: 68)	Кольцевая пермутация
tdIL-10	SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQL DNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPPQAENQDP DIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAF NKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNggggsgggsggggsS PGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQL DNLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPPQAENQDP DIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAF NKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN (SEQ ID NO: 69)	Тандем-димер
cpIL-13 (75/74)	VSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLHLKFLFREGRFNgggggL TCLGGFASPGVPPSTALRELIEELVNITQNQKAPLCNGSMVWS INLTAGMYCAALESINVSGCSAIEKTQRMLSGFCPHK (SEQ ID NO: 70)	Кольцевая пермутация

Таблица 7 – Кодон-оптимизированные последовательности ДНК сконструированных белков (цитокины)

Название	Кодон-оптимизированная последовательность	Примечания
scIFN- γ	Caggatcctacgtgaaagaagccgagaacttaagaaatatttcaacgcaggccattcagacgtc gctgataatggaacactttttgggcattctgaaaaattggaaggaagaatcggaccgaaaaattat gcagagccagatagatccttttattcaagtatttaaaaaactcaaacgacgatcagctatccaaaa agtgaggagactatcaaggaggacatgaatgtgaagttctcaacagcaataaaaagaacgggat gactttgaaaagctaccaataactcagtcactgatctgaacgtgcagagaaaggcgattcatgagct aatccaagtgatggctgagctcggagccaacgtgagcggagagttgtgaaggaagccgagaatc	Одноцепочечный; Randal et al 2000

	tgaagaagtatttcaacgctggtcactctgacgtggcagataacggcacgctgttctctggggatcctgaagaattggaagaagagctccgacaggaagattatgcaatcccagatcgtcagtttctactttaagctttcaagaattcaaaagacgatcagagatccagaagtctgtcgagaccataaaagaagacatgaatgtaaagtttttaattcaacaaaaagaagcgtgacgatttcgaaaaactaccaactactccgttacagatctgaacgttcagagaaaagccattcacgagttgatccaagttatggccgagctctctctgca gctaagacaggtaaagaggaaacggagccagatgctgtttcgcggg (SEQ ID NO: 71)	
cpIL-1 β (89/88)	Aactacccccaaaaaaagatggagaagcgggtttgttttaacaagattgagatcaacaataagctggaattcgagctctgcgagttccaaactggatattagcacatcgcaagcagaaaatagcccgtgttctcggcggaaacaaaggcgggagcagatcacagactttacgatgcagttcgtgtcatctggtggtggtggaagcggcgggggagggcagtgggggagggcgggtccgcccagtgaggtcctgaactgtaccttaagagactcacagcaaaagtcctggtcatgtctggcccctacgaactgaaagcccttcactgcaggggcaagatatggagcagcaggtggtttcagcatgagttttgacagggcgaagagagtaatgacaagatacctgtggctctaggactcaaggaaaagaatttgatctcagctgctgctgaaggacgataaacctactctcagttggagtcctgatccgaaa (SEQ ID NO: 72)	Кольцевая пермутация
scIL-12	atctgggagctcaaaaaggatgtttatgtggtcgaactgactggtacccggacgcaccagggggagatggtggtgtgacctgacacccccgaagaggacgggattacatggactttggaccagttccagtgaagtcctgggctcgggaaagacctgactatccaggtgaaggagttcggagatgctggacaatat acatgccacaaggcggggaggtttgagccattccctcctgctgctgcataaaaaagagatggtatgtggagcactgatattctgaaagaccagaaggaaccaagaacaaaacttttctgcggtgtgaggccaagaattacagtggaagattcacctgttggtggttaaccacaatctctaccgatctacttttccgt caaatcaagtcgcggcagcagcagatccacagggcgtgacgtgcggcgtgccacactaagcgggagagagtgcggggtgacaacaaggaatcagagtactccgttgagtgtcaagaagactctgcatgccctgccgacaggaatcattaccgatcgaagtaatggtggatgctgttcacaaactgaagtatgaaactacacttcttctttttcataaggacattatcaagcctgatcctccaaagaacctccaacttaaacactcaagaatagccgtcaggtagaggtgtcctgggagtagccccgatacctggtcaacgccccactcatatttctcctgacgttctgtgtgacaggtgcaggggaaatccaagagggagaagaagacagggttttacagataagacatctgccactgtcatctgcagaaaaatgcctctatatccgtgagagcccaggaccgctactattctagtagctggagcagtggtgtagttacctgttcgggctcaaccagcggatccgggaaacccgggtctggtgaggggagtagcaaaaggacgaaatctgccagtggtacccccgaccgggcatgtttccctgcctccatcatagccagaatctgctcagagcgggtcagcaacatgctacagaaggcccgcagaccttagagttttacccttgacctctgaggaaatcgatcacgaagacatcacaaagataagactagcaccgttgaagcctgtctcccattggaacttcaaaaaatgaatctgtctgaattccagagagacatctttatcactaatggaagtgcctcgcagtcggaaaactccttcatgatggccctgtgtcagttcaatctacgaggtcttaagatgatcaagtgaattcaaacgatgaacgcaaaactgttgatggatcctaagaggcagatattttggatcagaacatgttagctgtgatcgcagagctgatgcaagcactcaactcaactcagagacagtcccccagaagtcctccctggaggagcctgacttctacaagacgaaaattaagctatgcattctgcttcacgcattcaggatagcggccgtaacaattgaccgtgtgatgagctatctgaacgcttcg (SEQ ID NO: 73)	Одноцепочечный; р40-линкер-р35, Lee et al 2001
cpIL-4 (38-37)	Aatacgactgagaaagagaccttttagggctgccacagtcctgcggcagttctatagtcaccatgagaaagacaccagatgtctggggcaaccgctcagcaattccatagacacaagcagttaatccgat ttctgaagcggcttgatcgttaactgtggggactagccggcctgaactcatgcccgtgaaagaagcgaatcagtcactcttgagaacttctcgaaggctcaagacaattatgcgcgaaaagtagcaagtgagctctggcggaaacgggtgggcacaagtgtgatattacgctccaagaaatcatcaagactctgaactccctgaccgagcagaaaacactttgactgagttgacagtgaccgacatattcggcgtagcaaa (SEQ ID NO: 74)	Кольцевая пермутация; Kreitman et al 1994
mIL-10	Tgcctggccagggaaacgcagagtgaaaatagctgtaccactttccggcaacctaccaaatgctcagagatctcggggatcattctccgggtgaagacatttttcaaatgaaggatcagttggacaacttctgttgaaggagtcactcttagaggactcaagggatacctggggtgccaagccctgtctgagatgattcagttctacctcgaagagtaatgccacaggccgaaaaccaggaccctgatataaagctcatgtcaatagtttaggcgagaatctgaaaactctcaggctcgtctcgaagatgccaccgctttctgcctgtgagaacgggggaggggtctggtggcaaaagcaaaagctgtggagcaagttaaaaatgc	Мономерная форма; Josephson et al 2000

	attcaacaacttcaggagaagggtattataaggcgatgtccgaatttgacatctttattaattacatcgaagcctatatgaccatgaagatcaggaac (SEQ ID NO: 75)	
cpIL-10 (58/57)	Ggttacttgggctgtcaggctctgagtgaatgattcagttctatcttgaagaggtatgcctcaggcggagaaccaagaccagacatcaaggccatgtgaactctctcggggagaatctgaaaactgcgactcgggtaagacgttgccacaggttctaccctgcgaaaaataaaagcaaggccgtcgagcaagtgaaaaacgcattcaataaactccaggaaaagggaatttacaaggccatgtccgagtttgatactttataactatattgaggcttacatgaccatgaagatccgcaatgggtggggaagcggcgggggagcagtgggggaggcgggtcctcccctggccagggaactcagtcagaaaatagctgcacacactttccagggaatctcccaacatgttgagagatctgagggacgccttctctcgggtgaaaacctttccaatgaaagaccagctggacaacctctctgaaggagagttactagaggattcaag (SEQ ID NO: 76)	Кольцевая пермутация
tdIL-10	Tctccgggacagggaaccagagcgaaaactctgcactcatttctcggcaacctcccaatatgctgcgagacttgccgacgacattctcaagggtgaagacgttctccagatgaaggatcaactggacaacttattgctgaaagaatctctgctcgaggatttcaaaggatacctgggatgcaggcactgagcga gatgatccaattttacctggaggaggtcatgcctcaggctgagaatcaggatcctgacatcaaggccacgtgaacagtcttgagagaatcttaagacccttaggctgagacttagacgggtgcaccgctttctgccctgcgaaaaatacaaaagcgggtggaacagggttaagaacgcttttaataagctcaggaaaa gggcattataaagctatgagtgaatttgacattttcattaactatcagaggcctatgacaatgaaa attaggaacgggggaggcgggagcggggcgggcggctcaggcgggtgggggggtcctctccagg tcaaggaacacaatctgagaactctgcacacactccccggcaatctaccaaacatgctcagagat ctcagggacgcgttcagtcgagtgaaaactttctccagatgaaggatcagctggacaatctactgct gaaagaaagcttgcttgaggattttaaaggctatctgggtgtcaggccttatcggagatgatccagtt tcttgagggaagttatgcctcaggcagaaaaccaagaccctgatcaaggctcatgtgaattcc ctcggtgaaaacctaaagacctacgcctcgtctcagacgggtcatcggttttgccatgcgagaa taagtcaaagccgtagagcaggtcaagaatgccttcaataagctccaggagaaggggatataca aagcaatgagcgaatttgacatttcatcaactacatagaggcctacatgaccatgaagatccggaa c (SEQ ID NO: 77)	Тандем- димер
cpIL-13 (75/74)	Gtgagcgcgggcccagtttagcagcctgcatgtgcgcataccaaaattgaagtggcgcagtttgta aagatctgctgctgcatctgaaaaactgttcgcgaaggccgtttaacggaggaggtggatctc tgacctgctgggcccgtttgcgagcccgggcccgggtccgccgagcaccgcgctgcgcgaact gattgagaactggtgaacattaccagaaccagaaagcggcctgtgcaacggcagcatggtgt ggagcattaacctgaccgcccgtatgtattgcggcgctggaagcctgattaactgagcggc tgcagcgcgattgaaaaaccagcgcgcatgtagcggctttgcccgcataaa (SEQ ID NO: 78)	Кольцевая пермутация

Таблица 8 – Последовательности линкеров и сигнального пептида

Название	Аминокислотная последовательность	Кодон-оптимизированная
Линкер (G4S) ₃	GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 171)	Ggtggtggtggaagcggcgggggaggcagtgggggaggcgg ggtcc (SEQ ID NO: 79)
Линкер Уитлоу	GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO: 172)	Ggctcaaccagcggatccgggaaaccgggttctggcgagggg agtacaagggga (SEQ ID NO: 80)
Линкер 26	SGGSGGGSGGGSGGGGS GGGSLQ (SEQ ID NO: 173)	Tctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcgggtggag gatcaggtggcgggggggtccggggcggaagtctgcag (SEQ ID NO: 81)
Сигнальный пептид CD8a	MALPVTALLLPLALLHAARP (SEQ ID NO: 174)	ATGGCCTTGCCTGTGACCGCATTACTGC TTCCACTCGCCCTGCTCCTGCACGCTGC GAGACCC (SEQ ID NO: 82)

Таблица 9 – Аминокислотные последовательности полных слитых белков (все конструкции сконструированы с репрезентативным сигнальным пептидом (CD8a) и гибким линкером (линкер 26))

Цитокин	Рецептор	Аминокислотная последовательность
IFN- α 2	IFNAR1	MALPVTALLLPLALLLHAARPCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKI SLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKD SSAAWDETLDDKfyTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSI LAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLR SKESGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQKNLKSPQKVEVDIIDD NFILRWNRSDSVGNVTFsFDYQKTGMDNWIKLSGCQNITSTKCN FSSLKLNvYEEIKLRIRAEKENTSSWYEVDsFTPFrKAQIGPPEVHL EAEDKAIVIHISPGTKDSVMWALDGLSFTYSLVIWKNSSGVEERIE IYSRHKIYKLSPETTYCLKVKAALLTSWKIGVYSPVHCiKTTVENEL PPPENIEVSVQNQNYVLKWDYTYANMTFQVQWLHAFrKRNPgNH LYKWKQIPDCENVKTTQCVFPQNVFQKGIYLLRVQASDGNNTSFW SEEIKFDTEIQAFLLPPVFNIRSLSDSFHIYIGAPKQSGNTPVIQDYPL IYEIIFWENTSNAERKIEKKTdVtVpNLKPLTVYCVKARAHTMDE KLNKSSVFSDAVCEKTKPGNTSKIWLIVGICIALFALPFVIYAAKVF LRCINyVFFPSLKPSSSIDEYFSEQPLKNLLLSTSEEQIEKCFIENISTI ATVEETNQTDEDHKKYSSQTSQDSGNYSNEDESESKTSEELQQDF V (SEQ ID NO: 83)
IFN- α 2	IFNAR2	MALPVTALLLPLALLLHAARPCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKI SLFSCCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKD SSAAWDETLDDKfyTELYQQLNDLEACVIQGVGVGTETPLMKEDSI LAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLR SKESGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQISYDSDPYTDESCTFKI SLRNFRSILSWELKNHSIVPTHYTLTYTIMSKPEDLKVVKNCANTT RSFCDLTDEWRSTHEAYVTVLEGFSGNTTLFSCSHNFWLAIDMSFE PPEFEIVGFTNHINVMVKFPSIVEEELQFDLSLVIEEQSEGIVKKHKP EIKGNMSGNFTYIIDKLIPNTNYCVSVYLEHSDEQAVIKSPLKCTLL PPGQESESAESAIGGGITVFLIALVLTSTIVTLKWIGYICLRNSLPKV LNFHNFLAWPPPNLPPLEAMDMVEVIYINRKKKVVWDYNYDDESD SDTEAAPRTSGGGYTMHGLTVRPLGQASATSTESQLIDPESEEEEDL PEVDVELPTMPKDSPQQLLELLSGPCERRKSPLQDPFPEEDYSSTEGS GGRITFNVDLNSVFLRVLDDEDSDDLEAPLMLSSHLEEMVDPEDP DNVQSNHLLASGEGTQPTFPSPSSEGLWSEDAPSDQSDTSESDVDL GDGYIMR (SEQ ID NO: 84)
IFN- β	IFNAR1	MALPVTALLLPLALLLHAARPMsYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQL NGRLEYCLKDRMNFdIPEEIKLQqFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFR QDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKL MSSLHLKRYYGRILHYLKAKESHCAWTIVRVEILRNfYFINRLTG YLRNSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQKNLKSPQKVEVDIIDD DNFILRWNRSDSVGNVTFsFDYQKTGMDNWIKLSGCQNITSTKC NFSSLKLNvYEEIKLRIRAEKENTSSWYEVDsFTPFrKAQIGPPEVH LEADKAIVIHISPGTKDSVMWALDGLSFTYSLVIWKNSSGVEERIE NIYSRHKIYKLSPETTYCLKVKAALLTSWKIGVYSPVHCiKTTVEN ELPPPENIEVSVQNQNYVLKWDYTYANMTFQVQWLHAFrKRNPg NHLYKWKQIPDCENVKTTQCVFPQNVFQKGIYLLRVQASDGNNTS FWSEEIKFDTEIQAFLLPPVFNIRSLSDSFHIYIGAPKQSGNTPVIQD YPLIYEIIFWENTSNAERKIEKKTdVtVpNLKPLTVYCVKARAHT MDEKLNKSSVFSDAVCEKTKPGNTSKIWLIVGICIALFALPFVIYAA

		KVFLRCINYVFFPSLKPSSSIDEYFSEQPLKNLLSTSEEQIEKCFIIE NISTATVEETNQTDEDHKKYSSQTSQDSGNYSNEDESESKTSEELQ QDFV (SEQ ID NO: 85)
IFN-β	IFNAR2	MALPVTALLLPLALLLHAARPMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQL NGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFR QDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKL MSSLHLKRYYGRIHLHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNFYFINRLTG YLRNSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQISYDSPDYTDESCTF KISLRNFRSILSWELKNHSIVPTHYTLTYTIMSKPEDLKVVKNCANT TRSFCDLTDEWRSTHEAYVTVLEGFSGNTTLFSCSHNFWLAIDMSF EPPEFEIVGFTNHINVMVKFPSIVEEELQFDLSLVIEEQSEGIVKKHK PEIKGNMSGNFYIIDKLIPNTNYCVSVYLEHSDEQAVIKSPLKCTL LPPGQESESAESA KIGGIITVFLIALVLTSTIVTLKWIGYICLRNSLPK VLNFHNFLAWPFPNLPLEAMDMVEVIYINRKKKVVWDYNYDDES DSDTEAAPRTSGGGYTMHGLTVRPLGQASATSTESQLIDPESEEEP DLPEVDVELPTMPKDSPQQLLELLSGPCERRKSPLQDPFPEEDYSSTE GSGGRITFNVDLNSVFLRVLDDESDDDLEAPLMLSSHLEEMVDPE DPDNVQSNHLLASGEGTQPTFPSPSSEGLWSEDAPSDQSDTSES DV DLGDGYIMR (SEQ ID NO: 86)
IFN-γ	IFNGR1	MALPVTALLLPLALLLHAARPQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVA DNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELI QVMAELSPA AKTGKRKRSQMLFRGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSLQEMGTADLGPSSVPTPTNVTIESYNMNPVYWEYQIMPQ VPVFTVEVKNYGVKNSEWIDACINISHHYCNISDHVGDPSNSLWV RVKARVGQKESAYAKSEEFVAVCRDGKIGPPKLDIRKEEKQIMIDIFH PSVFNVDGEQEVDPETTCYIRVYNVYVRMNGSEIQYKILTQKE DDCDEIQCLAI PVSSLNSQYCVSAEGLVHVWGVTTTEKSKEVCITI FNSSIKGSLWIPVVAALLLFLVLSLVFICFYIKKINPLKEKSIILPKSLI SVVRSATLETKPESKYVSLITSYQPFSLEKEVVCEEPLSPATVPGMH TEDNPGKVEHTEELSSITEVVTTEENIPDVVPGSHLTPIERESSPLS SNQSEPGSIALNSYHSRNCSESDHSRNGFDTSSCLESHSSLS DSEF PPNNKGEIKTEGQELITVIKAPT SFGYDKPHVLVDLLVDDSGKESLI GYRPTEDSKEFS (SEQ ID NO: 87)
IFN-γ	IFNGR2	MALPVTALLLPLALLLHAARPQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVA DNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELI QVMAELSPA AKTGKRKRSQMLFRGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSLQAPPDPLSQLPAPQHPKIRLYNAEQVLSWEPVALSNSTRP VVYQVQFKYTDSKWFTADIMSIGVNCTQITATECDFTAASPSAGFP MDFNVTLRLRAELGALHSAWVTMPWFQHYRNVTVGPPENIEVTP GEGSLIIRFSSPFDIADTSTAFFCYVHYWEKGGIQQVKGPFRSNSIS LDNLKPSRVYCLQVQAQLLWNKSNIFRVGHLSNISCYETMADAST ELQQVILISVGTFSLLSVLAGACFFLVLYRGLIKYWFHTPPSIPLQI EEYLKDPTQPILEALDKDSSPKDDVWDSVSIISFPEKEQEDVLQTL (SEQ ID NO: 88)
scIFN-γ	IFNGR1	MALPVTALLLPLALLLHAARPQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVA DNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELI QVMAELGANVSGEFVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILK NWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNV KFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELSPA

		KTGKRKRSQMLFRGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQEMG TADLGPSSVPTPTNVTIESYNMNPVYWEYQIMPQVPVFTVEVKNY GVKNSEWIDACINISHHYCNISDHVGDPSNSLWVRVKARVGQKES AYAKSEEFVCRDGGKIGPPKLDIRKEEKQIMIDIFHPSVFNVDGEQE VDYDPETTTCYIRVYNVYVRMNGSEIQYKILTQKEDDCDEIQCLAI PVSSLNSQYCVSAEGLVHVWGVTTEKSKEVCITIFNSSIKGSLWIPV VAALLFLVLSLVFICFYIKKINPLKEKSIILPKSLISVVRSATLETKPE SKYVSLITSYQPFSEKEVVCEEPLSPATVPGMHTEDNPGKVEHTE ELSSITEVVTTEENIPDVVPGSHLTPIERESSPLSSNQSEPGSIALNS YHSRNCSESDHSRNGFDTDSSCLESHSSLSDSEFPNNKGEIKTEGQ ELITVIKAPTSFGYDKPHVLVDLLVDDSGKESLIGYRPTEDSKEFS (SEQ ID NO: 89)
scIFN- γ	IFNGR2	MALPVTALLLPLALLHAARPQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVA DNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELI QVMAELGANVSGEFVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILK NWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKS VETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELSPAA KTGKRKRSQMLFRGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQAPPD PLSQLPAPQHPKIRLYNAEQVLSWEPVALSNSTRPVVYQVQFKYTD SKWFTADIMSIGVNCTQITATECDFTAASPSAGFPMDFNVTLRLRA ELGALHSAWVTMPWFQHYRNVTVGPPENIEVTPGEGSLIIRFSSPF DIADTSTAFFCYVHYWEKGGIQQVKGPFRSNSISLDNLKPSRVYC LQVQAQLLWNKSNIFRVGHLNISCYETMADASTELQQVILISVGT FSLLSVLGACFFLVLYRGLIKYWFHTPPSIPLQIEEYDKDPTQPIL EALDKDSSPKDDVWDSVSIISFPEKEQEDVLQTL (SEQ ID NO: 90)
TNF- α	TNFR1	MALPVTALLLPLALLHAARPVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQ LQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGGQCP STHVLLTHTISRIVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIALSGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSLQLVPHLGDREKRDSVCPQGYIHPQ NNSICCTKCHKGTLYNDCPGPGQDTCRECEGSFTASENHLRH CLSCSKCRKEMGQVEISSCTVDRDTCVCGCRKNQYRHYWSENLFQ CFNCSLCLNGTVHLSCQEKQNTVCTCHAGFFLRENECVSCSNCKK SLECTKLCLPQIENVKGTEDSGTTVLLPLVIFFGCLL SLLFIGLMYR YQRWWSKLYSIVCGKSTPEKEGELEGTTTKPLAPNPSFSPTPGFTPT LGFSPVPSSTFTSSSTYTPGDCPNFAAPRREVAPPYQGADPILATALA SDPIPPLQKWEDSAHKPQSLDTPATLYAVVENVPPLRWKEFVR RLGLSDHEIDRLELQNGRCLREAQYSMLATWRRRTPRREATLELL GRVLRDMDLLGCLEDIEEALCGPAALPPAPSLLR (SEQ ID NO: 91)
TNF- α	TNFR2	MALPVTALLLPLALLHAARPVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQ LQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGGQCP STHVLLTHTISRIVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIALSGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSLQLPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYD QTAQMCCSKCSPGQHAVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQLWNWVP ECLSCGSRCSSDQVETQACTREQNRICTRPGWYCALSKQEGCRL CAPLRKCRPGFGVARPGTETSDVVCKPCAPGTFSTNTSSDTCRPH QICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPGAVHLPQPVSTRSQHTQ PTPEPSTAPSTSFLPMGSPPAEGSTGDFALPVGLIVGVTALGLLIIG VNCVIMTQVKKKPLCLQREKVPPLPADKARGTQGPQQHLLIT APSSSSSSLESSASALDRRAPTRNQPQAPGVEASGAGEARASTGSS

		DSSPGGHGTQVNVTCIVNVCSSSDHSSQCSSQASSTMGDTDSSPSE SPKDEQVPPFSKEECAFRS QLETPE TLLGSTEEKPLPLGVPDAGMKP S (SEQ ID NO: 92)
IL-1 β	IL-1R1	MALPVTALLLPLALLHAARPAPVRS LNCTLRDSQQKSLVMSGPY ELKALHLQGQDMEQQVVF SMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYL SCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEINNKL EFESA QFPNWIYSTSQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSSSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSLQLEADKCKEREK IILVSSANEIDVRPC PLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVSTEQASRIHQHKEKLWFVPAKVE DSGHYYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPNLCYNAQAIFKQKLPVA GDGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKDCKPLLLDNIHFSGVKD RLIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYPITRVIEFITLEENKPTRP VIVSPANETMEVDLGSQIQLICNVTGQLSDIAYWKWNGSVIDEDDP VLGEDYYSVENPANKRRSTLITVLNISEIESRFYKHPFTCFAKNTHG IDAAYIQLIYPVTNFQKHMIGICVTLTVIIVCSVFIYKIFKIDIVLWYR DSCYDFLPIKASDGKTYDAYILYPKTVGEGSTSDCDIFVFKVLPEVL EKQCGYKLFYGRDDYVGEDIVEVINENVKKSRLIILVRETSGFS WLGGSSSEEQIAMYNALVQDGIKVV LLELEKIQDYEKMPESIKFIKQ KHGAIRWSGDF TQGPQSAKTRFWKNVRYHMPVQRRSPSSKHQLL SPATKEKLQREAHVPLG (SEQ ID NO: 93)
IL-1 β	IL-1R3	MALPVTALLLPLALLHAARPAPVRS LNCTLRDSQQKSLVMSGPY ELKALHLQGQDMEQQVVF SMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYL SCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEINNKL EFESA QFPNWIYSTSQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSSSGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSLQSERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARI KCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRI SKEKDVLWFRPTLLNDTGNITCMLRNTTYCSKVAFPLEV VQKDISC FNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGYKI QNFNNVIPEGMNL SFLIALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTV KVVGSPKNAVPPVIHSPNDHV VYEKEPGEELLIPCTVYF SFLMDSR NEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRTEDETRTQILSIKKVTSED LKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVKQKVPAPRYTVELACFGATVL LVVILIVVYHVYWLEMVLFYRAHF GTDETILDGKEYDIYVSYARN AEEEEFVLLTLRGVLENEFGYKLCIFDRDSLPGGIVTDETL SFIQKS RLLVVLSPNYVLQGTQALLELKAGLENMASRGNINVLVQYKAV KETKVKELKRAKT VLTVIKWKGEKSKYPQGRFWKQLQVAMPVK KSPRRSSSDEQGLSYSSLKNV (SEQ ID NO: 94)
cpIL-1 β (89/88)	IL-1R1	MALPVTALLLPLALLHAARP NYPKKKMEKRFVFNKIEINNKL EFE SAQFPNWIYSTSQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSSGGGGG GGGGSGGGGSAPVRS LNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQ DMEQQVVF SMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPT LQLESVDPKSGGGSGGGSGGGGSLQLEADKCKE EEKIILVSSANEIDVRPCPLNPNEHKGTITWYKDDSKTPVSTEQASR IHQHKEKLWFVPAKVEDSGHYYCVVRNSSYCLRIKISAKFVENEPN LCYNAQAIFKQKLPVAGDGGLVCPYMEFFKNENNELPKLQWYKD CKPLLLDNIHFSGVKDR LIVMNVAEKHRGNYTCHASYTYLGKQYP ITRVIEFITLEENKPTRPVIVSPANETMEVDLGSQIQLICNVTGQLSDI AYWKWNGSVIDEDDPVLGEDYYSVENPANKRRSTLITVLNISEIES RFYKHPFTCFAKNTHGIDAAYIQLIYPVTNFQKHMIGICVTLTVIIVC SVFIYKIFKIDIVLWYRDSCYDFLPIKASDGKTYDAYILYPKTVGEG STSDCDIFVFKVLPEVLEKQCGYKLFYGRDDYVGEDIVEVINENV KKSRLIILVRETSGFSWLGGSSSEEQIAMYNALVQDGIKVV LLELE

		KIQDYEKMPESIKFIKQKHGAIRWSGDFTQGPQSAKTRFWKNVRY HMPVQRRSPSSKHQLLSPATKEKLQREAHVPLG (SEQ ID NO: 95)
cpIL-1β (89/88)	IL-1R3	MALPVTALLLPLALLLHAARNYPKKKMEKRFVFNKIEINNKLEFE SAQFPNWIYSTSAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSSGGGGS GGGSGGGGSAPVRSLNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQ DMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPT LQLESVDPKSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQSERCDDWGL DTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTAHSAGLTLIWYWTRQ DRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTY CSKVAFPLEVVQKDSCFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYF PSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIPEGMNLISFLIALISNNGNYTCV VTYPEGRTFHLTRTLTKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPG EELLIPCTVYFSLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHSRT EDETTRQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVKQKVP APRYTVELACGFGATVLLVILIVVYHVYWLEMVLFYRAHFGTDE TILDGKEYDIYVSYARNAEEEEFVLLTLRGVLENEFGYKLCIFDRDS LPGGIVTDETLSFIQKSRLLVVLSPNYVLQGTQALLELKAGLENM ASRGNINVILVQYKAVKETKVKELKRAKTVLTVIKWKGEKSKYPQ GRFWKQLQVAMPVKKSPRRSSSDEQGLSYSSLKNV (SEQ ID NO: 96)
IL-6	IL-6Rα	MALPVTALLLPLALLLHAARPVPPGEDSKDVAAPHRQPLTSSERID KQIRYILDGISALRKETCNKSNMCESSKEALAENNLNLPKMAEKD GCFQSGFNEETCLVKIITGLLEFEVYLEYLQNRFESEEQARAVQMS TKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLLTKLQAQNQWLQDMTT HLILRSFKEFLQSSLRALRQMSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS LQLAPRRCPAQEVARGVLTSLPGDSVTLTTCPGVEPEDNATVHWVL RKPAAGSHPSRWAGMGRLLLSVQLHDSGNYSYRAGRPAAGTV HLLVDVPPEEPQLSCFRKSPLSNVVCEWGRSTPSLTTKAVLLVRKF QNSPAEDFQEQYQESQKFCQAVPEGDSSFYIVSMCVASSVG SKFSKTQTFQCGILQPDPPANITVTAVARNPRWLSVTWQDPHSWN SSFYRLRFELRYRAERSKTFTTWMVKDLQHHCVIHDAWSGLRHV VQLRAQEEFGQGEWSEWSPEAMGTPWTESRSPPAENEVSTPMQA LTTNKDDDNILFRDSANATSLPVQDSSSVPLPTFLVAGGSLAFGTLL CIAIVLRFKKTWKLRLALKEGKTSMHPPYSLGQLVPERPRPTPVLVP LISPPVSPSSLGSDNTSSHNRPDARDPRSPYDISNTDYFFPR (SEQ ID NO: 97)
IL-6	gp130	MALPVTALLLPLALLLHAARPVPPGEDSKDVAAPHRQPLTSSERID KQIRYILDGISALRKETCNKSNMCESSKEALAENNLNLPKMAEKD GCFQSGFNEETCLVKIITGLLEFEVYLEYLQNRFESEEQARAVQMS TKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLLTKLQAQNQWLQDMTT HLILRSFKEFLQSSLRALRQMSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS LQELLDPCGYISPESPVVQLHSNFTAVCVLKEKCMDYFHVNANYIV WKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVTFTDIASLNIQLTCNILTFGQLEQN VYGITIISGLPPEKPKNLSCIVNEGKKMRCEWDGGRETHLETNFTL KSEWATHKFADCKAKRDTPTSCVDYSTVYFVNIEVWVEAENAL GKVTSDHINFDPVYKVKPNPPHNLVINSEELSSILKLTWTNPSIKS VILKYNIQYRTKDASTWSQIPPEDTASTRSSFTVQDLKPFTEYVFRI RCMKEDGKGYWSDWSEEASGITYEDRPSKAPSFYWKIDPSHTQG YRTVQLVWKTLPPEANGKILDYEVTLTRWKSHLQNYTVNATKLT VNLTNDRYLATLTVRNLVGKSDAAVLTIPACDFQATHPVMDLKAFP KDNMLWVEWTTPRESVKKYILEWCVLSDKAPCITDWQQEDGTVH RTYLRGNLAESKCYLITVTPVYADGPGSPESIKAYLKQAPPSKGPT

		<p>VRTKKVGKNEAVLEWDQLPVDVQNGFIRNYTIFYRTIIGNETAVNV DSSHTEYTLSSLTSDTLYMVRMAAYTDEGGKDGPEFTFTTPKFAQG EIEAIVVPVCLAFLLTLLGLVFCFNKRDLIKKHIWPNVDPSPKSHI AQWSPHTPPRHNFNNSKDQMYSDGNFTDVSVVEIEANDKKPFPEDL KSLDLFKKEKINTEGHSSGIGGSSCMSSSRPSISSSDENESSQNTSST VQYSTVVHSGYRHQVPSVQVFSRSESTQPLLDSEERPEDLQLVDH VDGGDGILPRQQYFKQNC SQHESSPDISHFERSKQVSSVNEEDFVR LKQQISDHISQSCGSGQMKMFQEVSAADAFGPGTEGQVERFETVG MEAATDEGMPKSYLPQTVRQGGYMPQ (SEQ ID NO: 98)</p>
scIL-12	IL-12-Rβ1	<p>MALPVTALLPLALLHAARPIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEM VLTCDTPEEDGITWTLQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCH KGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNY SGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRG DNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTS SFF IRDIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCV QVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWS EWASVPCSGSTSGSGKPGSGEGSTKGRNLPVATPDPGMFPCLHHSQ NLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPL ELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMY QVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVP QKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASSGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGSLQCRTSECCFQDPPYPDADSGSASGPR DLRCYRISSDRYEC SWQYEGPTAGVSHFLRCCLSSGRCCYFAAGSA TRLQFSDQAGVSVLYTVTLWVESWARNQTEKSPEVTLQLYNSVKY EPPLGDIKVS KLAGQLRM EWETPDNQVGAEVQFRHRTSSPWKLG DCGPQDDDTESCLCPLEMNVAQEFQLRRRQLGSQGSSWSK WSSPV CVPPENPPQPQVRF SVEQLGQDGRRLTLKEQPTQLELPEGCQGLA PGTEVTYRLQLHMLSCPCKAKATRTLHLGKMPYLSGAAYNVAVIS SNQFGPGLNQTWHIPADTHTEPVALNISVGTNGTTMYWPARAQSM TYCIEWQPVGQDGLATCSLTAPQDPDPAGMATYSWSRESGAMG QEKCYITIFASAHPEKLT LWSTVLSTYHFGGNASAAAGTPHHVSVK NHSLDSVSVDWAPSLSTCPGVLKEYVVRCRDEDSKQVSEHPVQP TETQVTL SGLRAGVAYTVQVRADTAWLRGVWSQPQRFSIEVQVSD WLIFASLGSFLSILLVGLYLGLNRAARHLCPPLTPCASSAIEFP GGKETWQWINPVDFQEEASLQEALV VEMSWDKGERTEPLEKTELP EGAPELALDTEL SLEDGDRCKAKM (SEQ ID NO: 99)</p>
scIL-12	IL-12-Rβ2	<p>MALPVTALLPLALLHAARPIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEM VLTCDTPEEDGITWTLQSSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCH KGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCEAKNY SGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRG DNKEYEYSVEQCEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTS SFF IRDIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCV QVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSSSWS EWASVPCSGSTSGSGKPGSGEGSTKGRNLPVATPDPGMFPCLHHSQ NLLRAVSNMLQKARQTLEFY PCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPL ELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMY QVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVP QKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNASSGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGSLQKIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVN ITCSLKPRQGCFHYSRRNKLILYKFDRRINFHHGHSLNSQVTGLPLG TTLFVCKLACINSDEIQICGAEIFVGV APEQPQNLSCIQKGEQGTVA CTWERGRDTHLYTEYTLQLSGPKNLTWQKQCKDIYCDYLD FGINL</p>

		<p>TPESPESNFTAKVTAVNSLGSSSSLPSTFTFLDIVRPLPPWDIRIKFQK ASVSRCTLYWRDEGLVLLNRLRYRPSNSRLWNMVNVTAKAGRHD LLDLKPFTEYEFQISSKLHLYKGSWSDWSESLRAQTPEEEPTGMLD VWYMKRHIDYSRQQISLFWKNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGGK AMTQNITGHTSWTTVIPRTGNWAVAVSAANSKGSSLPTRINIMNLC EAGLLAPRQVSANSEGMDNILVTWQPPRKDPSAVQEYVVEWREL HPGGDTQVPLNWLRSRPNVVSALISENIKSYICYEIRVYALSGDQG GCSSILGNSKHKAPLSGPHINAITEEKGSILISWNSIPVQEQMGCLLH YRIYWKERDSNSQPQLCEIPYRVSQNSHPINSLQPRVTYVLWMTAL TAAGESHGNREFCLOGKANWMAFVAPSICIAIIMVGIFSTHYFQ QKVFVLLAALRPQWCSREIPDPANSTCAKKYPIAEKTKQLPLDRLL IDWPTPEDPEPLVISEVLHQVTPVFRHPPCSNWPQREKGIQGHQAS EKDMMHSASSPPPRALQAESRQLVDLYKVLSESRGSDPKPENPACP WTVLPAGDLPTHGGLPSNIDDLPSHEAPLADSLEELEPQHISLSVF PSSSLHPLTFSCGDKLTLQDKMRCDLML (SEQ ID NO: 100)</p>
IL-4	IL-4Rα	<p>MALPVTALLLPLALLHAARPHKCDITLQEIHTLNSLTEQKTLCTE LTVTDIFAASKNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEKDTRCLGATAQQ FHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEANQSTLENFLERLK TIMREKYSKCSSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQMKVLQE PTCVSDYMSISTCEWKMNGPTNCSTELRLLYQLVFLLEAHTCIPE NNGGAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEH VKPRAPGNLTVHTNVSDTLTLLTWSNPYPDPDNYLYNHLTYAVNIWSE NDPADFRIYNTYLEPSLRIAASSTLKSISYRARVRAWAQCYNNTW SEWSPSTKWHNSYREPFEQHLLLVSVSCIVILAVCLLCYVSITKIK KEWWDQIPNPARSRLVAIIIQDAQSQWEKRSRGQEPKCPHWKN CLTKLLPCFLEHNMKRDEDPHKA AKEMPFQGSQSAWCPVEISK VLWPESISVVRVVELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCASPESSRDDFQ EGREGIVARLTESLFDLLGEENGGFCQQDMGESCLLPPSGSTSAH MPWDEFPSAGPKEAPPWGKEQPLHLEPSPPASPTQSPDNLTCTETP LVIAGNPAYRSFNSLSQSPCPRELGPDP LLARHLEEVEPEMPCVPQ LSEPTTVPQPEPETWEQILRRNVLQHGAAAAPVSAPTSGYQEFVHA VEQGGTQASAVVGLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSPEKCGFGASS GEEGYKPFQDLIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRSPQSSHLPS PEHLGLEPGEKVEDMPKPLPQEATDPLVDSLGSIVYSALTCHL CGHLKQCHGQEDGGQTPVMASPCCGCCCGDRSSPPTPLRAPDPS PGGVPLEASLCPASLAPSGISEKSKSSSSFHPAPGNAQSSSQTPKIVN FVSVGPTYMRVS (SEQ ID NO: 101)</p>
IL-4	IL-2Rγc	<p>MALPVTALLLPLALLHAARPHKCDITLQEIHTLNSLTEQKTLCTE LTVTDIFAASKNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEKDTRCLGATAQQ FHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEANQSTLENFLERLK TIMREKYSKCSSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQLNTTILTP NGNEDTTADFFLTMTPTDSL SVSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCTWN SSSEPQPTNLTLYHYWYKNSDNDK VQKCSHYLFSEEITSGCQLQKK EIHLQYTFVVLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHKLS ESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSL PSVDGQKRYTFRVRSRFPNLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNTSKENP FLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVE YHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGA SPCNQHSPYWAPPCYTLKPET (SEQ ID NO: 102)</p>
IL-4	IL-13Ra1	<p>MALPVTALLLPLALLHAARPHKCDITLQEIHTLNSLTEQKTLCTE LTVTDIFAASKNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEKDTRCLGATAQQ FHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEANQSTLENFLERLK</p>

		TIMREKYSKCSSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQGGGGAA PTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTWNPPEGASSNCSLWYFSHFQDK QDKKIAPETRRSIEVPLNERICLQVGSQCSTNESEKPSILVEKCISPPE GDPESAVTELQCIWHNLSYMKCSWLPGRNTSPDTNYTLYYWHRSLE EKIHCENIFREGQYFGCSFDLTKVKDSSFEQHSVQIMVKDNAGKI KPSFNIVPLTSRVKPPPHIKNLSFHNDLQVQWENPQNIFSRCLFY EVEVNSQTETHNVFYVQEAACENPEFERNVENTSCFMVPGVLPD TLNTVRIRVKTNKLCYEDDKLWSNWSQEMSIGKKRNSTLYITMLLI VPVIVAGAIIVLLLYLKRLKIIIFPIPDGKIFKEMFGDQNDLTLHW KKYDIYEKQTKKEETDSVVLIIENLKKASQ (SEQ ID NO: 103)
cpIL-4 (38-37)	IL-4R α	MALPVTALLLPLALLLHAARPNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEK DTRCLGATAQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKAN QSTLENFLERLKTIMREKYSKCSSGGNGGHKCDITLQEIITLNSLT EQKTLCTELTVDIFAASKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ MKVLQEPTECVSDYMSISTCEWKMNGPTNCSTELRLLYQLVFLSE AHTCIPENGGAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKG SFKPSEHVKPRAPGNLTVHTNVSDTLLLTWSNPYPDPNYLYNHLY AVNIWSENDPADFRIYNTYLEPSLRIAASTLKS GISYRARVRAWA QCYNTTWSEWSPSTKWHNSYREPFEQHLLLVSVSCIVILAVCLLC YVSITKIKKEWWDQIPNPARSRLVAIIIQDAQGSQWEKRSRGQEP KCPHWKNCLTKLLPCFLEHNMKRDEDPHKAAKEMPFQGSKSA WCPVEISKTVLWPESISVVRVELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCAS PESSRDDFQEGREGIVARLTESLFLDLLGEENGGFCQQDMGESCLL PPSGSTSAHMPWDEFPSAGPKEAPPWGKEQPLHLEPSPPASPTQSP DNLTCTETPLVIAGNPAYRSFSNSLSQSPCPRELGPDP LLARHLEEV EPEMPCVPQLSEPTTVPQPEPETWEQILRRNVLQHGAAAAPVSAPT SGYQEFVHAVEQGGTQASAVVGLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSP EKCGFGASSGEEGYKPFQDLIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRS PQSSHLPSSSPEHLGLEPGEKVEDMPKPPLPQEATDPLVDSLGS VYSALTCHLCGHLKQCHGQEDGGQTPVMASPCCGCCCGDRSSPP TTPLRAPDPSPGGVPLEASLCPASLAPSGISEKSKSSSSFHAPGNAQ SSSQTPKIVNFVSVGPTYMRVS (SEQ ID NO: 104)
cpIL-4 (38-37)	IL-2R γ c	MALPVTALLLPLALLLHAARPNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEK DTRCLGATAQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKAN QSTLENFLERLKTIMREKYSKCSSGGNGGHKCDITLQEIITLNSLT EQKTLCTELTVDIFAASKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ LNTTILTPNGNEDTTADFFLTMTPTDSL SVSTLPLPEVQCFVFNVEY MNCTWNSSSEPQPTNLTLYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEEITSG CQLQKKEIHL YQTFVVLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPEN LTLHKLSESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVD YRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFNPLCGSAQHWSEWSPIHWGS NTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKN LEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGA LGEGPGASPCNQHSPLYWAPPCYTLKPET (SEQ ID NO: 105)
cpIL-4 (38-37)	IL-13R α 1	MALPVTALLLPLALLLHAARPNTTEKETFCRAATVLRQFYSHHEK DTRCLGATAQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKAN QSTLENFLERLKTIMREKYSKCSSGGNGGHKCDITLQEIITLNSLT EQKTLCTELTVDIFAASKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ GGGGAAPTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTWNPPEGASSNCSLWY FSHFQDKQDKKIAPETRRSIEVPLNERICLQVGSQCSTNESEKPSILV EKCISPPEGDPESAVTELQCIWHNLSYMKCSWLPGRNTSPDTNYTL YYWHRSLEKIHQCENIFREGQYFGCSFDLTKVKDSSFEQHSVQIMV

		KDNAGKIKPSFNIVPLTSRVKPDPPHIKNLSFHNDLYVQWENPQN FISRCLFYEEVNNNSQTETHNVFYVQEAKCENPEFERNVENTSCF MVPGLPDTLNTVRIRVKTNLKCYEDDKLWSNWSQEMSIGKKRN STLYITMLLIVPVIVAGAIIVLLLYLKRLKIIIFPPIDPGKIFKEMFGD QNDDTLHWKKYDIYEKQTKEETDSVVLINLKKASQ (SEQ ID NO: 106)
IL-10	IL-10R1	MALPVTALLLPLALLHAARSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLR DLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMI QFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPC ENKSKAVEQVKNANLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIR NSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQHGTLPSPPSVWFEAEFF HHILHWTPIPNQSESTCYEVALLRYGIESWNSISNCSQTL SYDLTAV TLDLYHSNGYRARVRAVDGSRHSNWTVTNTRFSVDEVTLTVGSV NLEIHNGFILGKIQLPRPKMAPANDTYESIFSHFREYEIAIRKVPGNF TFTHKKVKHENFSLTSGEVGEFCVQVKPSVASRSNKGMWSKEEC ISLTRQYFTVTNVIIFFAFVLLLSGALAYCLALQLYVRRRKLPSVL LFKKPSPFIFISQRPSPETQDTIHPLDEEAFLKVSPELKNLDLHGSTD SGFGSTKPSLQTEEPQFLLPDHPQADRTLGNREPPVLGDSCSSGSS NSTDSGICLQEPSLSPSTGPTWEQQVGSNSRGQDDSGIDL VQNSEG RAGDTQGGGALGHHSPEPEVPGEEDPAAVAFQGYLRQTRCAEEK ATKTGCLEESPLTDGLGPKFGRCLVDEAGLHPPALAKGYLKQDPL EMTLASSGAPTQWNQPTTEWSLLALSSCSDLGISDWSFAHDLAP LGCVAAPGGLLGSFNSDLVTLPLISSLQSSE (SEQ ID NO: 107)
IL-10	IL-10R2	MALPVTALLLPLALLHAARSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLR DLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMI QFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPC ENKSKAVEQVKNANLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIR NSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQMVPPPENVRMNSVNFK NILQWESPAFAKGNLFTAQYLSYRIFQDKCMNTTTECDFSSLSK YGDHTLRVRAEFADEHSDWVNITFCPVDDTIIGPPGMQVEVLADS LHMRFLAPKIENEYETWTMKNVYNSWTYNVQYWKNGTDEKFQI TPQYDFEVLRLNLEPWTTYCVQVRGFLPDRNKAGEWSEPVCEQTT HDETVPSSWMAVILMASVFMVCLALLGCFALLWCVYKTKYAFS PRNSLPQHLKEFLGHPHHTLLFFSFPLSDENDVFDKLSVIAEDSES GKQNPGDSCSLGTPPGQPQS (SEQ ID NO: 108)
mIL-10	IL-10R1	MALPVTALLLPLALLHAARSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLR DLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMI QFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPC ENGGGSGGKSKAVEQVKNANLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAY MTMKIRNSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQHGTLPSPPSV WFEAEFFHHILHWTPIPNQSESTCYEVALLRYGIESWNSISNCSQTL SYDLTAVTLDLYHSNGYRARVRAVDGSRHSNWTVTNTRFSVDEV TLTVGSVNLEIHNGFILGKIQLPRPKMAPANDTYESIFSHFREYEIAIR KVPGNFTFTHKKVKHENFSLTSGEVGEFCVQVKPSVASRSNKGM WSKEECISLTRQYFTVTNVIIFFAFVLLLSGALAYCLALQLYVRRR KLPSVLLFKKPSPFIFISQRPSPETQDTIHPLDEEAFLKVSPELKNLD LHGSTDGFGSTKPSLQTEEPQFLLPDHPQADRTLGNREPPVLGD SCSSGSSNSTDSGICLQEPSLSPSTGPTWEQQVGSNSRGQDDSGIDL VQNSEGRAGDTQGGGALGHHSPEPEVPGEEDPAAVAFQGYLRQT RCAEEKATKTGCLEESPLTDGLGPKFGRCLVDEAGLHPPALAKG YLKQDPLEMTLASSGAPTQWNQPTTEWSLLALSSCSDLGISDWS

		FAHDLAPLGCVAAPGGLLGSFNSDLVTLPLISSLQSSE (SEQ ID NO: 109)
mIL-10	IL-10R2	MALPVTALLLPLALLLHAARSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQMVPPPENVRMNSVNFKNILQWESPAFAKGNLFTAQYLSYRIFQDKCMNTTTECD FSSL SKYGDHTLRVRAEFADEHSDWVNITFCPVDDTIIGPPGMQVEVLADSLHMRFLAPKIENEYETWTMKNVYNSWTYNVQYWKNGTDEK FQITPQYDFEVLRLNLEPWTTYCVQVRGFLPDRNKAGEWSEPVC EQTTHDETVPSWMVAVILMASVFMVCLALLGCFALLWCVYKTKYAFSPRNSLPQHLKEFLGHPHHNTLLFFSFPLSDENDVFDKLSVIAEDSESGKQNP GDSCSLGTPPGQGPQS (SEQ ID NO: 110)
cpIL-10 (58/57)	IL-10R1	MALPVTALLLPLALLLHAARPGYLGCQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNGGGGSGGGGSGGGSSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQHGTELPSPPSVWFEAEFFHHILHWTPIPNQSESTCYEVALLRYGIESWNSISNCSQTL SYDLTAVTLDLYHSNGYRARVRAVDGSRHSNWTVTNTRFSVDEVTLTVGSVNLEIHNGFILGKIQLPRPKMAPANDTYESIFSHFREYEIAIRKVPGNFTFTHKKVKHENFSLTSGEVGEFCVQVKPSVASRSNKG MWSKEECISLTRQYFTVTNVIFFAFVLLLSGALAYCLAQLYVRRRKKLPSVLLFKKPSPFIFISQRPSPETQDTIHPLDEEAFKLVSPELKNLDLHGSTDSGFGSTKPSLQTEEPQFLLPDHPHADRTLG NREPPVLGDSCSSGSSNSTDSGICLQEPSLSPSTGPTWEQQVGSNSRGQDDSGIDL VQNSEGRAGDTQGG SALGHHSPEPEVPGEEDPAAVAFQGYLRQTRCAEEKATKTGCLEESPLTDGLGPKFGRCLVDEAGLHPPALAKGYLKQDPLEMTLASSGAPTQOWNQPTTEWSLLALSSSDLGISDWSFAHDLAPLGCVAAPGGLLGSFNSDLVTLPLISSLQSSE (SEQ ID NO: 111)
cpIL-10 (58/57)	IL-10R2	MALPVTALLLPLALLLHAARPGYLGCQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNGGGGSGGGGSGGGSSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQMVPPPENVRMNSVNFKNILQWESPAFAKGNLFTAQYLSYRIFQDKCMNTTTECDFSSL SKYGDHTLRVRAEFADEHSDWVNITFCPVDDTIIGPPGMQVEVLADSLHMRFLAPKIENEYETWTMKNVYNSWTYNVQYWKNGTDEK FQITPQYDFEVLRLNLEPWTTYCVQVRGFLPDRNKAGEWSEPVC EQTTHDETVPSWMVAVILMASVFMVCLALLGCFALLWCVYKTKYAFSPRNSLPQHLKEFLGHPHHNTLLFFSFPLSDENDVFDKLSVIAEDSESGKQNP GDSCSLGTPPGQGPQS (SEQ ID NO: 112)
tdIL-10	IL-10R1	MALPVTALLLPLALLLHAARSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNGGGGSGGGGSGGGSSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRRLRRCHRFLPCENK

		KAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNSGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQHGTELPSPPSVWFEAEFFHHIL HWTPIPNQSESTCYEVALLRYGIESWNSISNCSQTLSDYDLTAVTLDL YHSNGYRARVRVDGSRHSNWTVTNTRFSVDEVTLTVGSVNLEIH NGFILGKIQLPRPKMAPANDTYESIFSHFREYEIAIRKVPGNFTFTH KKVKHENFSLTSGEVGEFCVQVKPSVASRSNKGMSKEECISLT RQYFTVTNVIIFFAFVLLLSGALAYCLALQLYVRRRKKLPSVLLFK KPSPFIFISQRPSPETQDTIHPLDEEAFLKVSPKLNLDLHGSTDSGF GSTKPSLQTEEPQFLLPDPHPQADRTLGNREPPVLGDSCSSGSSNST DSGICLQEPSLSPSTGPTWEQQVGSNSRGQDDSGIDLQNSEGRAG DTQGGGALGHHSPEPEVPGEDPAAVAFQGYLRQTRCAEEKATK TGCLEESPLTDGLGPKFGRCLVDEAGLHPPALAKGYLKQDPLEM TLASSGAPTQWNQPTTEWSSLALSSCSLDGISDWSFAHDLAPLG CVAAPGGLLGSFNSDLVTLPLISSLQSSE (SEQ ID NO: 113)
tdIL-10	IL-10R2	MALPVTALLLPLALLLHAARPSPGQGTQSENSCTHFPGNLPMMLR DLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMI QFYLEEVMQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRLRRLRCHRFLPC ENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIR NGGGGSGGGGSGGGGSSPGQGTQSENSCTHFPGNLPMMLRDLRD AFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFY EEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLLRLRRLRCHRFLPCENK KAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNSGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQMVPPPENVRMNSVNFKNILQ WESPAFAKGNLFTAQYLSYRIFQDKCMNTTLTECDFSSLKYGDH TLRVRAEFADEHSDWVNITFCPVDDTIIGPPGMQVEVLADSLHMR FLAPKIENEYETWTMKNVYNSWYTNVQYWKNGTDEKFQITPQY DFEVLRLNLEPWTTYCVQVRGFLPDRNKAGEWSEPVCQTTTHDET VPSWMVAVILMASVFMVCLALLGCFALLWCVYKTKYAFSPRNS LPQHLKEFLGHPHNTLLFFSFPLSDENDVFDKLSVIAEDSESGKQ NPGDSCSLGTPPGQPQS (SEQ ID NO: 114)
IL-13	IL-13Rα1	MALPVTALLLPLALLLHAARPLTCLGGFASPGPVPPSTALRELIEEL VNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALESINVSIGCSAIEK TQRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLLHLKCLF REGRFNSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQGGGGAAPTETQP PVTNLSVSVENLCTVIWWTWNPPEGASSNCSLWYFSGFDKQDKKI APETRRSIEVPLNERICLQVGSQCSTNESEKPSILVEKCISPPEGDPES AVTELQCIWHNLSYMKCSWLPGRNTSPDTNYTLYYWHRSLEKIH QCENIFREGQYFGCSFDLTKVKDSSFEQHSVQIMVKDNAGKIKPSF NIVPLTSRVKPDPPHIKNSLHNDLQVWENPQNFISRCLFYEV NNSQTETHNVFYVQEAACENPEFERNVENTSCFMVPGVLPDTLNT VRIRVKTNKLCEYEDDKLWSNWSQEMSIGKKRNSTLYITMLLIVPVI VAGAIIVLLLYLKRLKIIIFPPDPGKIFKEMFGDQNDDTLHWKKY DIYEKQTKETDSVVLIIENLKKASQ (SEQ ID NO: 115)
IL-13	IL-4Rα	MALPVTALLLPLALLLHAARPLTCLGGFASPGPVPPSTALRELIEEL VNITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALESINVSIGCSAIEK TQRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLLLHLKCLF REGRFNSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQMKVLQEPTCVSD YMSISTCEWKMNPTNCSTELRLLYQLVFLLEAHTCIPENNGGAG CVCHLLMDDVVSADNYTDLWAGQQLLWKGSKPSEHVKPRAP GNLTVHTNVSDTLTLLTWSNPYPPDNYLYNHLTYAVNIWSENDPAD FRIYNVTYLEPSLRIAASTLKSIGSYRARVRAWAQCYNNTTWEWSP STKWHNSYREPFEQHLLLVSVSCIVILAVCLLCYVVSITKIKKEWW

		DQIPNPARSRLVAIIIQDAQGSQWEKRSRGQEPACPHWKNCLTKL LPCFLEHNMKRDEDPHKAAKEMPFQGSQSAWCPVEISKTVLWP ESISVVRCELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCASPESSRDDFQEGRE GIVARLTESLFLDLLGEENGGFCQQDMGESCLLPPSGSTSAHMPW DEFPSAGPKEAPPWGKEQPLHLEPSPPASPTQSPDNLTCTETPLVIA GNPAYRSFSNSLSQSPCPRELGPDP LLARHLEEVEPEMPCVPQLSEP TTVPQPEPETWEQILRRNVLQHGAAAAPVSAPTSQGYQEFVHAVEQ GGTQASAVVGLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSPEKCGFGASSGEEG YKPFQDLIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRSPQSSHLPSSSPEHL GLEPGEKVEDMPKPPLPQEQATDPLVDSLGSIVYSALTC HLCGHL KQCHGQEDGGQTPVMASPCCGCCGDRSSPPTTPLRAPDPSGGV PLEASLCPASLAPSGISEKSKSSSSFHPAPGNAQSSSQTPKIVNFVSV GPTYMRVS (SEQ ID NO: 116)
cpIL-13 (75/74)	IL-13Ra1	MALPVTALLLPLALLHAARVVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKD LLLHLKCLFREGRFNGGGGSLTCLGGFASPGVPVPPSTALRELIEELV NITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALES LINVSGCSAIEKT QRMLSGFCPHKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQGGGAA PTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTVNPPPEGASSNCSLWYFSHFGD KQDKKIAPETRRESIEVPLNERICLQVGSQCSTNESEKPSILVEKCISP PEGDPESA VTELQCIWHNLSYMKCSWLPGRNTSPDTNYTLYYWH RSLEKIHQCENIFREGQYFGCSFDLTKVKDSSFEQHSVQIMVKDNA GKIKPSFNIVPLTSRVKPDPPHIKNLSFHND DLYVQWENPQNFISRC LFYEVEVNNSQTETHNVFYVQEA KCENPEFERNVENTSCFMVPGV LPDTLNTVRIRVKTNKLCYEDDKLWSNWSQEMSIGKKRNSTLYIT MLLIVPVIVAGAIIVLLYLKRLKIIIFPIPDGKIFKEMFGDQNDT LHWKKYDIYEKQTKEETDSVLIENLKKASQ (SEQ ID NO: 117)
cpIL-13 (75/74)	IL-4Ra	MALPVTALLLPLALLHAARVVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKD LLLHLKCLFREGRFNGGGGSLTCLGGFASPGVPVPPSTALRELIEELV NITQNQKAPLCNGSMVWSINLTAGMYCAALES LINVSGCSAIEKT QRMLSGFCPHKSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQMKVLQE PTCVSDYMSISTCEWKMNGPTNCSTELRLLYQLVFLLEAHTCIPE NNGGAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEH VKPRAPGNLTVHTNVSDTLTLLTWSNPYPPDNYLYNHLTYAVNIWS ENDPADFRIYNVTYLEPSLRIAASTLKS GISYRARVRAWAQCYNNT WSEWSPSTKWHNSYREPFEQHLLLVSVSCIVILAVCLLCYVSITKI KKEWWDQIPNPARSRLVAIIIQDAQGSQWEKRSRGQEPACPHWK NCLTKLLPCFLEHNMKRDEDPHKAAKEMPFQGSQSAWCPVEISK TVLWPESISVVRCELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCASPESSRDDF QEGREGIVARLTESLFLDLLGEENGGFCQQDMGESCLLPPSGSTSA HMPWDEFPSAGPKEAPPWGKEQPLHLEPSPPASPTQSPDNLTCTET PLVIAGNPAYRSFSNSLSQSPCPRELGPDP LLARHLEEVEPEMPCVP QLSEPTTVPQPEPETWEQILRRNVLQHGAAAAPVSAPTSQGYQEFV HAVEQGGTQASAVVGLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSPEKCGFGA SSGEEGYKPFQDLIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRSPQSSHLPS SSPEHLGLEPGEKVEDMPKPPLPQEQATDPLVDSLGSIVYSALTC HLCGHLKQCHGQEDGGQTPVMASPCCGCCGDRSSPPTTPLRAP DPSGGVPLEASLCPASLAPSGISEKSKSSSSFHPAPGNAQSSSQTPK IVNFVSVGPTYMRVS (SEQ ID NO: 118)
IL-18	IL-18Ra	MALPVTALLLPLALLHAARPYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQG NRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMVAVTISVKCEKIS TLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNKMQFESS YEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNESSGGGGGG

		GGSGGGGSGGGGSGGGSLQAESCTSRPHITVVEGEPFYLKHCSCS LAHEIETTTKSWYKSSGSQEHVELNPRSSSRIALHDCVLEFWPVEL NDTGSYFFQMKNYTQKWKLNVIRRNKHSFCFERQVTSKIVEVKK FFQITCENSYYQTLVNSTSLYKNCKKLLLENNKNPTIKKNAEFEDQ GYYSVCVHFLHHNGKLFNITKTFNITIVEDRSNIVPVLLGPKLNHVAV ELGKNVRLNCSALLNEEDVIYWMFGEENGSDPNIHEEKEMRIMTP EGKWHASKVLRIENIGESNLNVLYNCTVASTGGTDTKSFILVRKAD MADIPGHVFTRGMIIAVLILVAVVCLVTVCVIYRVDLVLVYRHLTRR DETLTDGKTYDAFVSYLKECRPENGEHTFAVEILPRVLEKHFQYK LCIFERDVVPGGAVVDEIHSLEIKSRRLIIVLSKSYMSNEVRYELES LHEALVERKIKIILIEFTPVTDFTFPLPQSLKLLKSHRVLKWKADKSL SYNSRFWKNLLYLMPAKTVKPGRDEPEVLPVLSSES (SEQ ID NO: 119)
IL-18	IL-18R β	MALPVTALLLPLALLHAARPYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQG NRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKIS TLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNKMQFESS YEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNESSGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGSLQFNISGCSTKKLLWTYSTRSEEEFVLC DLPEPQKSHFCHRNRLSPKQVPEHLPFMGSNDLSDVQWYQQPSN GDPLEDIRKSYPHIQDKCTLHFLTPGVNNSGSYICRPKMIKSPYDV ACCVKMILEVKPQTNASCEYSASHKQDLLGSTGSISCPSLSCQSD AQSPAVTWYKNGKLLSVERSNRIVVDEVYDYHQGTYYCDYTQSD TVSSWTVRAVVQVRTIVGDTKLKPDILDPVEDTLEVELGKPLTISC KARFGFERVFNPKWYIKDSDLEWEVSVPEAKSIKSTLKDEIERN IILEKVTQRDLRRKFVCFVQNSIGNTTQSVQLKEKRGVLLYILLG TIGTLVAVLAASALLYRHWIEIVLLYRTYQSKDQTLGDKKDFDAFV SYAKWSSFPSEATSSLSEEHLALSLFPDVLENKYGYSLCLLERDVAP GGVYAEDIVSIIKRSRRGIFILSPNYVNGPSIFELQAAVNLALDDQTL KLILIKFCYFQEPESLPHLVKKALRVLPVTVWRGLKSVPPNSRFA KMRYHMPVKNSQGFTWNQLRITSRIFQWKGLSRTETTGRSSQPKE W (SEQ ID NO: 120)

Таблица 10 – Кодон-оптимизированные последовательности ДНК для полных конструкций (все конструкции сконструированы с репрезентативным сигнальным пептидом (CD8a) и гибким линкером (линкер 26))

Цитокин	Рецептор	Кодон-оптимизированная последовательность
IFN- α 2	IFNAR1	atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgtgcgacc ttccacagaccattccctcggctctcgaagaactctgatggtgctggcccagatgcggaagattctctttt ctcatgtctgaaagacaggcacgacttggtttcccaggaggagttcggaaccagttccagaaagcg gaaaccattcctgtgctgcacgaaatgatccaacaattttcaacctgtttcaactaaagatagctccgctg catgggacgagacactcctcgataagttttatacagagctttaccagcagttaaatgatctggaagcttggt catccaaggggtcggcgtaaccgagacgcccctgatgaaggaggatagcactgagcagtgcggaagt acttccagaggatcacctctatctaaaggaaaaaagtagcagtcctgctgctgggaagtggftagagc cgaaatcatgctagcttttcttatctacaaatttgaggagtcggtgctgagtaagagctggaggcgg aagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcggaagtctgc agaagaacctgaaatccccacagaaagtcgagtgacatcatcgatgacaattcatcttaagatgga ccgtagcgtagtcgctcggaatgtcacatttttgattatcagaagaccgggatggacaactggat taagctgtccggtgccagaacataaccagtaaccaagttaactcagcagcctcaaactcaatgtatatga ggaaatcaagctgaggatccgggccgagaaggaaaacacaagctcctggtatgaagtgattcattact ccatttcgaaaagcgcaaataggacccccggaagttcacctcagggtggaagataagcaattgataac

		<p>acatatcgctggcaccaaggactctgtgatgtgggcttagatgggctgtcattcacgtacagcctggtg atctggaagaacagttctgggggtggaggagagaatagaaaacatttatagtcgccacaaaaactacaaatt gtcaccgaaacaacctattgcctgaaggtcaaggcggcactattgacgtcctggaagatcgggctgtac tcaccagtgcattgtataaagacaacagtggaaacgagcttccccgccggagaatattgaggttccgt gcagaatcagaattatgtttgaagtgggactacacatatgccaatatgaccttccaggttcaatggcttcat gcatttctgaaaagaaccctgtaaccctttacaaatggaagcagattctgactgcgagaatgcaa gaccacacagtgcgtgttctcctcaaacgtttccagaagcctctatctgctacgggtccaggttccga tggcaataatacctcatttggagcgaggaaattaaattcgacactgaaatccaagccttctactcctccc gtatttaacatcaggagtctgtctgatagcttccatattfacatcggtgctccaagcagctggaaacactc ccgtgatccaggattacccctcatctacgagatcatttctgggaaaaacaccttaacgccgaacggaag attatagagaagaaaactgacgtcactgtgcctaacctgaaaccattaactgtctattgctcaaagctagg gcccacaccatggatgaaaaactgaacaagtctagcgtgttcagcgcagcagtttggagaaaacgaag ccaggaaatacttaagattggcttatcgtgggcatttgtatcgctctgttcgactgcccttgaatctac gccgcaaggttttctccgtgtattaattatgtgttttccatcctgaagccatcatcgctgattgacgag tacttctgagcaacctctaaaaacctgtgttccaccagtgaagagcagattgagaaatgcttcattat cgaaaatattcaacaatgccacagtggaggagacgaatcagaccgacgaggaccataagaagtaca gcagtcagacatctcaggattccgggaattacagcaatgaagatgaaagtgaatccaaaactagcgagg agctccaacaggactttgtg (SEQ ID NO: 121)</p>
IFN- α 2	IFNAR2	<p>atggccttaccagtgaccgccttgcctcctgccgctggccttgcctcctcacgccccaggccgtgagacc ttccacagaccattcctcggctctcgaagaactctgatgttgcctggccagatgccgaagatttctttt ctcatgtctgaaagacagcagactttggtttcccaggaggagttcggaaaccagttccagaaagcg gaaaccattcctgtgctgcacgaaatgatccaacaaatttcaacctgtttcaactaaagatagctccgctg catgggacgagacactcctcgataagtttatacagagctttaccagcagttaaatgatctggaagcttgtg catccaaggggtcggcgtaacggagacgccctgatgaaggagatagcatactggcagtgccggaagt acttccagaggatcacctctatctaaaggaaaaaagtacagtcctgctgcctgggaagtgggttagagc cgaaatcatgctagcttttcttatctacaatttgcaggagtcggttgcgcagtaaaagagcttgaggcgg aagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcagtgccgggggggtcggggggcgggaagtctgc agatcagctacgactccccgattacaccgacgagtcctgtacctttaaatactcctacgtaactcaggt ccattctcctgggaactgaaaaaccatagcattgtgcccgactactatacactgctgtataccataatgct taaaccgaggatctgaaggtggtgaagaactgtgcgaacaccacaagatccttctgcgacctgacaga tgagtggcgatctaccatgaagcctacgtcacggtctcagggcttcagcggtaataccacactttca gctgctacataactttggttggccatcgatagtctttgaaccaccaggattcgagattgctggttcaca aaccacatcaatgtcatggtgaatttcttattgtcgaggaagaactccagtttgattgagcctcgtgat tgaggagcagtcagagggaaatcgtgaagaagcataagcccgaataaagggaatagtgagggaact tcacttacataatcgacaagctcatccccaacgaattattgtgtcagtgatctcagcactcggatga gcaagccgtgatcaagctccacttaagtgcactctcctgccgcccaggccaggagtcagagagcgtga atcggctaagataggcgggatcattaccgttctcctatcgcactggtgtgacttactattgttacctga agtggatcggatacatctgcttgcgcaactctctgcccaaaagttctaaacttcacaatttctggcctggcc cttccccaatcttctcctctggaggccatggacatggttaggttatatataaatcggaaaaaaaagtc tgggactacaattacgatgacgaaagtgactcagacacggaggccgccaccaaggacctctggagggg gctatactatgcacggccttaccgtgagacctttaggacaggcatctgctacaagcactgaaagccagct gattgaccagagagcggaggaagagcctgatctaccagaagtggatgtagagctccgacaatgccta aggactcccccaacagctcgaactgttgagcggccttgtgaaaggcgaaaagtcccttgcagatc cgttccctgaagaagactatagcagtagcaggaagatccggcggtcggattacattcaactggtgattaaat agtgtattttacgggttctggacgatgaggacagtgatgatctggagcgccttattgctgctccc ctggaggagatggttagacccgaagatccagataacgtgcagctaatcaccttctggcttccggggaa ggtactcagccaaccttctagcttctcagagggcttattggtcagaagacgcaccaagcagatcagtc agacacaagtgagagcgcagctgagacctcggggacgggtacattatgaga (SEQ ID NO: 122)</p>
IFN- β	IFNAR1	<p>atggccttaccagtgaccgccttgcctcctgccgctggccttgcctcctcacgccccaggccgatgagtt ataatttactcggatttctacagcggctagcaactccaatgtcagaagctgctgtggcaactcaacggca ggctggagtactgctcaaagatagaatgaactttgatattcccgaagaaatcaagcagcttcagcagttc cagaaagaggacgccgactaacatatacagagatgctgcagaacatttctgctatattcagacaggact</p>

	<p>cgctctactggatggaatgagaccatcgtcgagaatttctggccaatgtgtatcatcaaattaaccacc tcaagacggtgcttgaagaaaagttgaaaaagaggacttactagaggcaaactgatgtcatccctca cctcaaacgctactatgggaggatcctgcactactaaaggcgaaggagtatagccattgcttggaca atcgttcgcgtagagattctgcggaatcttactttatcaatcgtttgacaggttacctgcgaaactctggagg cggaaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcggaagt ctgcagaagaacctgaaatcccacagaaagtcgaggtggacatcatcgatgacaatttcatcttaagatg gaaccgtagcgatgagtcctcggaatgtcacatttcttttgattatcagaagaccgggatggacaactg gattaagctgtccggtgccagaacataaccagtaccaagtgaacttcagcagcctcaaactcaatgtata tgaggaaatcaagctgaggatccgggcccagagaaggaaaaacacaagctcctggtatgaagttgattcatt actccattcgaagagcgaataggacccccggaagttcacctcgaggctgaagataaagcaattgtaa tacacatcgcctggcaccaggactctgtgatgtgggcttagatgggctgtcattcacgtacagcctg gtgatctggaagaacagttctggggtggaggagagaatagaaaaattatagtcgccaaaaatctaca aattgtcaccgaaacaacctattgcctgaaggtcaaggcggcactattgacgtcctggaagatcggcgt gtactcaccagtgcattgtataaagacaacagtggaacgagcttccccgcggagaatattgaggttt ccgtgcagaatcagaattatgttgaagtgggactacacatagccaatagaccttccaggttcaatggc ttcatgcatttctgaaaagaaacctggttaaccaccttacaatggaagcagattcctgactgcgagaatg tcaagaccacagtgctgttctctaaaacgtttccagaaaggcatctatctgctacgggtccaggctt ccgatggcaataatactcatttggagcggagaaataaattcgaactgaaatccaagccttctactcc ctcccgtatttaacatcaggagtctgtctgatagcttccatattacatcgggtctccaagcagctggaaa cactcccgtgatccaggattaccccctcatctacgagatcatttctgggaaaacaccttaacgccgaac ggaagattatagagaagaaaactgacgtcactgtgcctaacctgaaaccattaactgtctattgctcaa gctagggccacaccatggatgaaaaactgaacaagtctagcgtttcagcagcagtttgtagaaa acgaagccaggaaatacttctaagatttgcttctgtggcatttgcctctgttcgactgcccttgt aatctacggccaaggttttctccgctgtattaattatgtgtttccatccctgaagccatcatcgtcgatt gacgagtaacttctgagcaaccttataaaacctgttgttccaccagtgaagagcagattgagaaatgc ttcattatcgaataatttcaacaatgccacagtgaggagacgaatcagaccgagaggaccataaga agtacagcagtcagacatctcaggattccgggaattacagcaatgaagatgaaagtgaatcaaaaactag cgaggagctccaacaggactttgtg (SEQ ID NO: 123)</p>
IFN-β	<p>IFNAR2 atggccttaccagtgaccgcttgcctcctgctgctggccttgcctcaccgccagggccgatgagtt ataatttactcggatttctacagcggcttagcaactccaatgtcagaagctgctgtggcaactcaacggca ggctggagtagctcctcaaagatagaatgaactttagattcccgaagaaatcaagcagcttcagcagttc cagaaagaggacgccgactaacatatacagagatgctgcagaacatttgcctatattcagacaggact cgtcctactggatggaatgagaccatcgtcgagaatttctggccaatgtgtatcatcaaattaaccacc tcaagacggtgcttgaagaaaagttgaaaaagaggacttactagaggcaaactgatgtcatccctca cctcaaacgctactatgggaggatcctgcactactaaaggcgaaggagtatagccattgcttggaca atcgttcgcgtagagattctgcggaatcttactttatcaatcgtttgacaggttacctgcgaaactctggagg cggaaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcggaagt ctgcagatcagctacgactccccgattacaccgacgagtcctgtacctttaaactcctcactgtaacttc aggtccattctctcctgggaactgaaaaaccatagcattgtgccgactcactatacactgctgtataccata atgtctaaaccgaggatctgaaggtggtgaagaactgtgcgaacaccacaagatccttctgcgacctga cagatgagtggtgatcaccatgaagcctacgtcacggtctcagggcttcagcggtaataccacact ttcagctgctcacataactttggtggccatcgatgtccttgaaccaccgagttcgagattgtcggtt caciaaccacatcaatgtcatggtgaaatttcttctattgtcgaggaagaactccagtttgattgagcctc gtgattgaggagcagtcagagggaatcgtgaagaagcataagcccgaataaagggaatatgagtg gaacttacttacataatcgacaagctcatcccacacgaattattgtgtcagtgatctcagcactcg gatgagcaagccgtgatcaagctcacttaagtgcactctcctgccgcccaggccaggagtcagagagc gctgaatcggctaagatagcgggatcattaccgtcttctcctcactgcactggtgttacttctactattgtac cctgaagtggtatcgatacatctgcttgcgcaactcttccaaaagtctaaacttcaactttctggcct ggccttcccatacttctcctctgaggccatggacatggttgaggtatctatataaatcggaaaaaaa aagtctgggactacaattacgatgacgaaagtactcagacacggaggccgaccaaggaccttggga gggggctatactatgcacggccttaccgtgagaccttaggacaggcatctgtacaagcactgaaagcc agctgattgaccagagagcaggaagagcctgatctaccagaagtgatgtagagctgccgacaatg</p>

		cctaaggactcccccaacagctcgaactgttgagcggcccttgtaaaggcgcaaaagtcccttgcaagatccggtccctgaagaagactatagcagtaaccgaaggatccggcggcggattacattcaacgtggattaaatagtgtattttacgggttctggacgatgaggacagtgatgatctggaggcgcccttatgctgtctccatctggaggagatggtagaccggaagatccagataacgtgcagtctaataccttctggcttccggggaaggtactcagccaaccttctagctcttccagagggcttatggtcagaagacgcaccaagcgatcagtcagacacaagtgagagcgacgtagacctcggggacgggtacattatgaga (SEQ ID NO: 124)
IFN- γ	IFNGR1	atggccttaccagtaccgccttctcctgcccgtggccttctgctccacgccgccaggccgcaggatccctacgtgaaggaaagcagaaaaatctcaaaaagtatttcaatgcgggccatagcgcgatgtggccgataacg gcaccctgttctggggattcttaagaattggaaagaggagtctgataggaagattatgcagtcaccagatcgtgagcttctattcaagctgttcaaaaactcaaaagacgaccagtcgatccaaaaatctgttgagacaataaaagaggacatgaatgtgaagtttttaattcaaacaaaaagaagcgcgacgattttgagaaattaacgaa ctactccgtcaccgacttgaacgtacaacgaaaggctattcacgaactaatccaggatcatggctgaactga gtctctgccccaagactggttaagcgtaaacggagtcagatgctctttagaggatctggaggcggaaagcg ggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggttccggggggcggaaagtctgcaggaa atggggactgccgacttgggacctagcagtgctcccactcccaccaactgaccatcgagtcttataatgaatcctattgtttattgggaatatcagatcatgctcaggtccagtgcttactgttgaagtgaaaaattacg gagtgaagaactcagagtgatagacgcttgcataaacatatctaccattactgcaatatttccgaccacgtgggcgaccccagcaacagtttgggtcagagtgaaagctcgcgtggggccagaaggagagtgctta tgccaaaagcgaagaattcggctttagagatggcaagatcggggcccccaattagacattcgcaaa gaagaaaaacaattatgatcgatatttccatccctctgtcttctcaacggcgacgaacaggaggtaga ttatgatccagagacaacgtgttacatcagggtatacaacgtttacgtgaggatgaatgggtcagagatcc agtataagatcctcactcaaaaggaggacgactgtgacgaaattcagtgtaactgccatccagtgcttcgctgaatagccagtagctgtctgctccgagggtgtgcttcacgtttggggagtcacaactgaaaagtc caaagaagttgtattaccattttaacagctctatcaagggctccctgtggataaccagtggtggcggcact gctgctgttctgtactcagcctggtcttcatctgcttctatattaagaagatcaaccctctgaaggagaaga gcatcactactaccaagtcgcttatctcagtcgtgctcggcaccctagaaactaagcccgaatcaaaa tatgtatccctgatcacaagctaccagccatttcttagagaaagaagtcgtgtgagaggagcctctgtcc ccagcaactgtgccaggtatgcatacggaggacaatccgggtaagtagagcacaccaggagctgtc cagcattacagaggtcgtcaccacagaggagaacataccgatgtgggtgcctggaagtcatctcacacct attgagcgtgaatctagcagtccttcttctaatcagagtgaaaccggggagattgcattaaactctacc actcccggaaatgcagcgaagcgcaccactcgagaaatgggtttgataccgatagttctgtctggaatcc cactcatcactgagcgttctgagttccgccaacaagaaggcgaatataaacggagggacaagag ctcatcaccgtcatcaaggctcaaccagtttgggttacgacaagcctcatgtttgggtgagctgtgtgg atgactcaggcaaggagtcctcattggataaccgacctacagaggattccaagagtttagc (SEQ ID NO: 125)
IFN- γ	IFNGR2	atggccttaccagtaccgccttctcctgcccgtggccttctgctccacgccgccaggccgcaggatccctacgtgaaggaaagcagaaaaatctcaaaaagtatttcaatgcgggccatagcgcgatgtggccgataacg gcaccctgttctggggattcttaagaattggaaagaggagtctgataggaagattatgcagtcaccagatcgtgagcttctattcaagctgttcaaaaactcaaaagacgaccagtcgatccaaaaatctgttgagacaataaaagaggacatgaatgtgaagtttttaattcaaacaaaaagaagcgcgacgattttgagaaattaacgaa ctactccgtcaccgacttgaacgtacaacgaaaggctattcacgaactaatccaggatcatggctgaactga gtctctgccccaagactggttaagcgtaaacggagtcagatgctctttagaggatctggaggcggaaagcg ggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggttccggggggcggaaagtctgcaggcc cccctgatcctctctcagactaccgccccacagcatcccaagataagactgtacaatgccgagcag gtgcttagctgggagcccgtggcactatcaaacagtacgagaccctggtgtaccaggtacagttcaagt acacagacagcaagtgtttaccgctgacattatgagcattggagtcaattgcaactcagatcaccgcaacc gagtgtgactttacagcagcttaccctccgcccgttccctatggacttcaacgtcactctcggcttctgtgcagaactgggcgcttctcattccgctgggtgacaatgccttgggtccagcactatccgaactcaccgt agggccccctgaaaatcgaagtaaccctggagaagggtcgtgataataaggtcagctctccgtttg acattgctgatacatcactgcttctctgctactatgtgcaactctgggagaaggcgggattcaacaag tgaaggccattcaggagcaacagtatcagctctcgacaacctgaaacctctcgcgtctattgcctcaa

		gtgcaggctcaactgctgtggaacaaaagtaatatatttccgagttggccacctgtctaataatctctgttatg agaccatggccgacgcatctacggagttgcagcaggtcatcctcatttctgtgggcacattttccctgctgt cggttctggccggtgcctgttttttctcgttttgaataaccgcggtgatcaataactggttcataccccac catcaataccattacagatcgaagagtatctaaagatccaactcagccaattttagaggcgctcgataagg actctagcccgaaggacgatgtgtgggattcctgttccatcatcagctttcccgaaggagcaggaaga gttctgcaaacttg (SEQ ID NO: 126)
scIFN- γ	IFNGR1	atggccttaccagtgaccgctgtcctcctgcccgtggccttgcctccacgcccaggccgaggtatg cctacgtgaaagaagccgagaacttaagaataatttcaacgcaggccattcagacgtcgtgataatgg aacacttttttggcattctgaaaaattggaaggaagaatcggaccgaaaaattatgcagagccagatag tatcctttatttcaagttatttaaaaacttcaagacgatcagtctatccaaaaagtgtggagactatcaag gaggacatgaatgtgaagtcttcaacagcaataaaaaaagaaacgggatgactttgaaaagctcaccaatta ctcagtcactgatctgaacgtgcagagaaaggcgattcatgagctaatccaagtgatggctgagctcgga gccaacgtgagcggagagtttgaaggaagccgagaatctgaagaagtattcaacgctggcactctg acgtggcagataacggcacgctgttctggggatcctgaagaattggaagaagagtcggacaggaag attatgcaatcccagatcgtcagtttctactttaagctttcaagaattcaaaagcagatcagagtatccagaa gtctgtcagaccataaaagaagacatgaatgtaaagtttttaattcaacaaaaagaagcgtgacgatt cgaaaaactcaccactactccgttacagatctgaacgttcagagaaaagccattcagagttgatccaag ttatggccgagctctcctcagcctaagacaggttaagaggaaacggagccagatgctgtttcgcggggtc tggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcggggggtcggggggc ggaagtctgcaggaatggggactgccgacttgggacctagcagtgctcccactcccaccacgtgac catcagcttataatgaatcctattgtttattgggaatatcagatcatgcctcaggttccagttcactgtt gaagtgaaaaattaccggagtgaagaactcagagtggaatagacgcttgcataaacatatctcaccactctg caatattccgaccacgtggcgaccccagcaacagtttgggtcagagtgaagctcgcgtgggcca gaaggagagtcttatccaaaagcgaagaattcggctttgtagagatggcaagatcgggcccccaa attagacattcgaagaagaaaaacaaattatgatcgatattccatccctctgtcttcgtaacggcgac gaacaggaggtagattatgatccagagacaacgtgttacatcagggtatacaacgtttacgtgaggatga atgggtcagagatccagtataagatcctcactcaaaaggaggacgactgtgacgaaattcagtgcaact cgccatcccagtgcttctcgtgaatagccagctgctgctgctgaggggtgtgcttcacgtttggggag tcacaactgaaaagtccaaagaagttgtattaccatttttaacagctctatcaagggtcctgtggatacc agtgtggcggcactgctgtgttctgtactcagcctgttctatctgcttctatattaagaagatcaacc ctctgaaggagaagagcatcactaccagtcgttatctcagtcgtgctggtccgccaccctagaaact aagcccgaatcaaaatgatccctgatcacaagctaccagccattttcattagaaagaagtcgtgtgc gaggagcctctgtcccagcaactgtgccaggtatgcatacggaggacaatccgggtaaagtagagca caccgaggagctgtccagcattacagaggtcgtcaccacagaggagaacataccgatgtgtgctg gaagtcatctcacacctattgagcgtgaatctagcagtccttcttctaatcagagtgaaccggggagta ttgcataaactcctaccactccggaattgcagcgaagcgaaccactcgagaaatgggtttgataccgat agttctgtctggaatccactcatcactgagcgattctgagttccgccaacaacaaggcgaaataaa acggagggacaagagctcatccgtcatcaaggctccaaccagtttgggttacgacaagcctcatgttt gggtgatctgcttgggatgactcaggcaaggagtcctcattggataccgacctacagaggattccaaa gagtttagc (SEQ ID NO: 127)
scIFN- γ	IFNGR2	atggccttaccagtgaccgctgtcctcctgcccgtggccttgcctccacgcccaggccgaggtatg cctacgtgaaagaagccgagaacttaagaataatttcaacgcaggccattcagacgtcgtgataatgg aacacttttttggcattctgaaaaattggaaggaagaatcggaccgaaaaattatgcagagccagatag tatcctttatttcaagttatttaaaaacttcaagacgatcagtctatccaaaaagtgtggagactatcaag gaggacatgaatgtgaagtcttcaacagcaataaaaaaagaaacgggatgactttgaaaagctcaccaatta ctcagtcactgatctgaacgtgcagagaaaggcgattcatgagctaatccaagtgatggctgagctcgga gccaacgtgagcggagagtttgaaggaagccgagaatctgaagaagtattcaacgctggcactctg acgtggcagataacggcacgctgttctggggatcctgaagaattggaagaagagtcggacaggaag attatgcaatcccagatcgtcagtttctactttaagctttcaagaattcaaaagcagatcagagtatccagaa gtctgtcagaccataaaagaagacatgaatgtaaagtttttaattcaacaaaaagaagcgtgacgatt cgaaaaactcaccactactccgttacagatctgaacgttcagagaaaagccattcagagttgatccaag ttatggccgagctctcctcagcctaagacaggttaagaggaaacggagccagatgctgtttcgcggggtc

		<p>tggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggtccgggggc ggaagtctgcaggccccctgatcctctctcacagctaccgccccacagcatccaagataagactgt acaatgccgagcaggtgcttagctgggagcccgtggcactatcaaacagtacgagaccgtggtgtacc aggtacagttcaagtacacagacagcaagtggttaccgctgacattatgagcattggagtaactgact cagatcaccgcaaccgagtgactttacagcagcttcaccctccgcccggattccctatggacttcaactg cactctgcccgttcgtgcagaactggggcgtcttattccgctgggtgacaatgccttgggtccagcacta tcggaacgtcaccgtagggccccctgaaaatcgaagtaaccctggagaaggttcgctgataataag gttcagctctccgtttgacattgctgatacatccactgcgttctctgctactatgtgcactactgggagaagg gcccggattcaacaagtgaaggccattcaggagcaacagtatcagctcgcacaacctgaaacctctcg cgtctattgcctccaagtgcaggctcaactgctgtggaacaaaagtaataatftccgagttggccacctgtct aatactctctgttatgagaccatggccgacgcatctacggagttgcagcaggtcctcctattctgtgggc acatttccctgctgtcggttctggccgggtgctgtttttctcgttttgaaataaccgcccgtgatcaataact ggtttcataccccaccatcaataaccattacagatcgaagagatcttaagatccaactcagccaattttaga ggcgtcgcataaggactctagcccgaaggacgatgtgtgggattccgtgtccatcatcagcttcccgaa aaggagcaggaagatgttctgcaactttg (SEQ ID NO: 128)</p>
TNF-α	TNFR1	<p>atggccttaccagtaccgcccctgctcctgccgctggccttctgctcaccgcccaggccggtgctgat cttcaagccggacacctcagacaagccagtggcacacgtggtagcgaaccacaagctgaggggca gctccagtggctcaatcggcgtgccaacgccctgttagccaatggggctcagcttagggacaaccaact gtggtaccctcgggaaggattatacttgattacagtcaggtgctgttcaaaggacagggtcgccttccaca catgttctgctcactcacagatctcccgcattgcagtgcttcatcagaccaaggtcaacttgtaagcgcta tcaaaagtccatgtcagagagagaccccggagggtgctgaggctaagccttgtaacgaacctatttact ggggcggagtcttcaactgaaaaaggtgatagactgagcgcagagatcaataggcccattacctgga cttcgccgaatccggccaggtttatftgggataatgcctctctggaggcgggaagcgggggtggcggc agcggcgggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcgggaagctgcagttggtaccatcttg gagaccgagagaacgggatagtgctgtccccagggaatatacacccacagaataactctatctg ctgactaagtgccataaaggaaactacctttataacgactgccagggccccggccaagataactgactgc agagagtgcgagtctgggagcttaccgctccgagaatcactgagacattgctgagttgtagcaagt gcaggaaggagatggggcaggtgagatctcatgtaccgtgatcgggacaccgtctgtggatgcc gcaaaaatcagatcggcattattggtccgaaaactatttcagtgtttaactgttcttgtgctgaacgga acagtccacctgagttgccaggaaaaacagaatacagttgcaactgcccagctggcttttctcccgag aacgaatgtgtgctgttccaattgtaagaagtctctagaatgtacaaagctgtgtctgccccaaatcgag aacgtgaaaggaactgaggacagtggtacaaccgtgtgctcctctggtgatcttctcgggctctgcct cctcagctgcttttcaattgggctaattgtaccgggtaccagcgttggaaatctaagtatactcaattgtctgtg ggaagtccacctgagaaggaaggagaactggaaggtactaccaccaaacactggctcaaacc ctccttctctctacaccggcttactcctacacctgggcttctcaccgggtgccagctcaacgttaccagc tcgagcacatacaccctggcgattgcccacttcgcagcaccgaagcgtgaaagtggccccaccctac cagggtgctgatccaacttgcaccgcattagccagcagatccgattcctaactcttacagaagtggga ggattcggcccacaaccccagagcctggacactgacgaccccgccacgctgatgctgtggtcagaga atgtaccgctctcagatggaaggaaattgtgagggcactgggctgtccgatcacgagatcgacagact ggagttgcaaaatggtcagtgctcctccgggagggcccagtagcagatgctggctacatggaggaggcgca cacctgcagggaggcactctgaattgctgggacgcgtgctcagagatatggactactcggatgtctt gaagacattgaagaggcgtctcggcccagcagccctgcctccggccaccatccctgctcaga (SEQ ID NO: 129)</p>
TNF-α	TNFR2	<p>atggccttaccagtaccgcccctgctcctgccgctggccttctgctcaccgcccaggccggtgctgat cttcaagccggacacctcagacaagccagtggcacacgtggtagcgaaccacaagctgaggggca gctccagtggctcaatcggcgtgccaacgccctgttagccaatggggctcagcttagggacaaccaact gtggtaccctcgggaaggattatacttgattacagtcaggtgctgttcaaaggacagggtcgccttccaca catgttctgctcactcacagatctcccgcattgcagtgcttcatcagaccaaggtcaacttgtaagcgcta tcaaaagtccatgtcagagagagaccccggagggtgctgaggctaagccttgtaacgaacctatttact ggggcggagtcttcaactgaaaaaggtgatagactgagcgcagagatcaataggcccattacctgga cttcgccgaatccggccaggtttatftgggataatgcctctctggaggcgggaagcgggggtggcggc agcggcgggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcgggaagctgcagctgctgcccaggctc</p>

		<p>gcttttacacatatgcacctgagcctggttccactgtaggcttagggagtactacgatcaaacgctcagatgtgttctccaagtgtagtcaggccagcacgcaaaagtctttgtacaaagacgtcagataccgtgtgacagctgcaagatagcacctataccagctgtggaattgggtcccgaatgtttgtctgtggctccgctgctctagtaccaggtggaacacagggcctgactcgggaacagaaccgtattgtacctgcaggcccgggtgtactgacgactgtccaacaagaggggtgtagactgtgtgccccttgcgcaagtgtcgtcaggcttcgggtggaagacctggaacagagacttcagacgtcgtttgtaagccctgcgcccctggcaattctccaataccacctcatctaccgacatatgcagacccaccaaatatgaacgtggtggctatccctgggaacgctccatggagcgtgtttgacttccacttcccactcggctctatggctcccgggtgccgtgcatttacccaaccctgagcactcggagccaacacacacagccaacaccgagccaagtaccgccccgagtaccagcttctactccccatgggcccactccaccggctgaggatctaccgggattttgctctgcctgtcgggctaactgtcgggggtgacggcgtcggattgctcattatcggagtgtaactgctgattatgactcagggtgaaaagaagcctttatgcctccagagagaagcgaagtcccactgctgcagacaaggccagggtacacagggcccgaacagcaactctgctgatcaccgcccccttcaagctccagcagcctggaatccagtgccagtgcacttgatcggcgcgcaccaacgcgaaaccagcccaggccccctggggtagggcatcaggcgtggagaagcgcgcgctagcacaggcagttccgattccagcctggaggggcatggaacacagtaaatgtcacctgcatcgtfaatgtgtgctcgtctcggaccacagcttcaatgtcaagccaggcctcaagcactatgggacactgatagctctccctccgagtcaccgaaggacgagcaggtcccatftagtaaaaggaggtgtgcctccgaagtgcagctggagacaccagaaaccctgctgggtctactgaaga gaaaccactccctctggcgtgccagatcggggaatgaagccgtcg (SEQ ID NO: 130)</p>
IL-1β	IL-1R1	<p>atggccttaccagtaccgccttgcctcctgccgctggccttgcctcaccgcccagggccggcgcctgtcagaagcctcaactgcacgctgagggactcacagcaaaagagcctggtcatgagtgccctacgagctgaaagcactccacctcaggggcaggacatggaacaacaggtggttttccatgtctttctacagggagaggagttaacgataagatccccgtggcttgggcttaaaagagaaaaacctgtatctgagctgtgtc taaaggacgataagcccacacttcagctcagctcggttgatccaaaaattatccaaagaagaaaatgga aaagcggtttgttttaacaagattgagattaataacaaattggaattcgaatcagcccagttccctaattggt acatcagctaccttcaagccgaaaatcgcgggttttctgggagggaccaagggtggccaggatataac agacttactatgcagtttgcctcgtcctctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcggtggag gatcaggtggcgggggggtcggggggcgggaagtctgcagctcagggccgataagtgc aaagaaagag aggaaaaaatcattctggttctagcgccaacgaaatcgtatcggcccctgtccactgaatcctaacgag cataaggggactataacatggtataaggacgacagcaagaccctgtgtctacagaacaagcaagcag gatacaccagcacaagaaaagccttggttgtaccagcaaaggctcaggacagcgggcattattatgc gtgtacgaaacagttcttactgcctcagaatcaagattccgctaagtttgcgagaacgaacctaatat gttacaacgcacaggctattttaacagaagctcccagttgctgggatggcggcctggtgtgtccctac atggagtttttaaaaatgagaataatgagctacctaactgcaatggtacaaggactgcaaaccctttgc tcgacaatattcacttcagcggagtgaagatcggctgattgtgatgaacgtggctgagaacaccgagg gaactatacatgccacgcctcttatacgtacctgggcaagcagtagtaccgatcactagagtattgaattat aacctggaagagaacaagccaactcgtcctgtcatagtatccccgcaaaccgaaccatggaggtgga cttgggtctcagatccagctgatttgcaatgttaccgggcaattgagtgatcgcctattggaagtggaat ggttctgtcattgacgaagacgatccagtgttaggagaggactattatagcgtagaaaatcctgcgaacaa gaggcggtcactctgataactgtcctgaacatcagtgagatcgagaccgatttataacatccattcac atgttgcgcaaaaatacacacgggatcgcggcctacattcagctgatctacccgtaaccaattcc agaagcacatgatcgggatatgcgtgacgtaaccgtgatcattgttgcagtttcaattacaagatctt caagatcgacatcgtcctttggtataggatagctgttacgacttctgccattaggcatcggatggcaa aacctacgacgcttacatctgtaccaaaagaccgtgggagaaggctcaacctccgactgtgacatttctg tcttaaggtgctccctgaggtcctcgagaacagtggtgctataaactgttcatctatggccgggatgact acgtgggcgaggatatagttgaagtcataaatgaaaatgtaagaatcacggaggctgatcatcattcta gtgcgggagacctcaggttttctggctcggcggctcctcagaggagcagattgcgatgtacaacgctc tgggtcaagatggaatcaaggtggttctgtggagctcgaagatccaggattacgagaaaatgccga gagcattaagtcatcaacaaaaacacggagccattagatggagtggtgatttcacgcaaggaccgca gtccccaagacacgttctgaaaaacgtgcgctatcatatgccctgcagaggagatccccctccagt aacatcagctgttatctccggcgactaaggaaaagcttcagcgcgaagcccatttctcttggga (SEQ ID NO: 131)</p>

IL-1β	IL-1R3	<p>atggccttaccagtaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccccaggccggcgctg tcagaagcctcaactgcacgctgagggactcacagcaaaagagcctggtcatgagtgccctacgag ctgaaagcactccacctcaggggagggacatggaacaacaggtggttttccatgctttctgacaggg agaggagttaacgataagatccccgtggcttgggcttaaaagagaaaaacctgtatctgagctgtg taaaggacgataagcccacacttcagctcagctcggctgatccaaaaaattatccaaagaagaaatgga aaagcgggttggtttaacaagattgagattaataacaaattggaattcgaatcagcccagttccctaattggt acatcagctcctcaagccgaaaatcgccggtggttctgggagggaccaagggtggccaggatataac agacttactatgcagtttctcgtcctctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcggtggag gatcaggtggcgggggggtccggggcgggaagtctgcagctccgagcggctgcgatgattggggcttaga taccatgcggcagattcaggtgtcgaagacgagcctgctcgcattaaatgcccgtctttgagcacttct gaagttaattacgactgctcactccgaggaactcactgatctggtattggacacgccaagacaga gatctggaggagcccattaatttagctcccggagaacaggatcttaaggagaaggagctgctggtg ttcggccgacactactgaacgatactgggaattacacatgatgcttcgaaatactacctattgctccaaggt ggctttccactgaggtggtgcagaaagacagctgttttaatagcccaatgaaactgccctgcacaagc tgtacatgaaatggcatacagagaatcacatgccctaactgcgacggctacttccctgactcagtaag ccgaccataacttggtatatgggctgctataaaatacagaactcaataatgtaatccccgagggatgaac ttgagttcctgatcgcactgatatacaaacgggaactacactgtgtggtgacttatcccgagaacgga cgcacattccattgacaaggacgttaactgtcaaggtagtgggtagtccaaagatgagttcctccgtg attcacagcccaatgatcagtggtgatgaaaaagaaccaggtgaagaactcctgatcccctgcacgg tgtacttctttttaaaggactcccgaatgaagttggtggaccatcgacggcaaaaaacctgatgatatt accatcgactgacaatcaacgagagcattcacatagtcggaccgaagatgagacaagaaccagatt cttagcataaaaaagtgacttctgaagacctgaagcgcagttacgtatgtcacgcgatccgcaaaag gggaagttgccaaggctgccaagggtgaagcagaaagtccctgcccacggtaaccgtagagctggc ctgtggcttcggagctacggtttctggtgttatcctatcgtcgtctatcatgtgactggtggagatggt gctttttatcgggccattcgggaccgatgagacgattctagacggaaaggagtagatattacgtctc gtacgccagaaatcgggaggaagaggaattcgtgctttaaaccctgaggggagtagtggaaaacgagtt tggctacaagttgtgtattttgacagagattcactgccaggaggaattgtcactgacgagacactctcattc atccagaaatctaggaggtgctcgttgcctgagtcctcaaatatgtctcaaggcaccaggccttgta gaactgaaggcggggctgaaaacatggcctctcgcgggaacatcaacgtaattctggtgcagtaaaa gcagtgaaggagaccaaaagtaagagctgaaacgagccaagacagctcactgcatcaagtggaa aggtgaaaaatcaaagtatccacaaggagattctggaagcagcttcaagtcgctatgccctgaaaga gtcccccgctcgtcctcctcggacgagcagggcctgagctacagctctcaagaatgct (SEQ ID NO: 132)</p>
cpIL-1β (89/88)	IL-1R1	<p>atggccttaccagtaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccccaggccgaactacc ccaaaaaaagatggagaagcgggttggtttaacaagattgagatcaacaataagctggaattcagctc gcgcagttccaaactggtatattagccatcgcaagcagaaaatgcccgtgttctcggcggaacca aaggcgggagggatcacagacttacgatgcagttcgtgctatctggtggtggaagcggcgggg gaggcagtgggggagggcgggtccgcccagtgaggtccctgaactgtacctaagagactcacagcaa aagtccttggtcatgctgcccctacgaactgaaagccctcacctgcaggggcaagatgagagcag caggtggtttcagcatgagttttgacagggcgaagagagtaatacaagatacctgtggtcctaggact caaggaaaagaattgtatctcagctgctcctgaaggacgataaacctactcttcagttggagtcgctg atccgaaatctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggg tccggggcgggaagtctgcagctcagggccgataagtgcgaaagaaagagaggaaaaaatcattctggt ttctagcgaacgaaatcgatgctccgcccctgtccactgaatcctaacgagcagataaggggactataacat ggtataaggacgacagcaagaccctgtgtctacagaacaagcaagcaggatacaccagcacaaga aaagctttggtttgtaccagcaaggtcgaggacagcgggcattattattgctggttacgaaacagttctta ctgctcagaatcaagattccgctaagttgtgcgagaacgaacctaactatgttacacgcacaggctatt tttaaacagaagctcccagttgctgggatggcggcctggtgtgctcctacatggagtttttaaaatgag aataatgagctacctaaactgcaatggtacaaggactgcaaacccctttgctcgacaataattcactcagc ggagtgaaagatcggctgattgtgatgaacgtggctgagaaacaccgcgggaactatacatgccacgcc tcttatacgtacctgggcaagcagtagctccgatcactagagtgattgaattataacactggaagagaaca gccaactcgtcctgcatagatccccgcaaacgaaacctggaggtggacttgggtctcagatccag</p>

		ctgatttgcaatgttacgggcaattgagtgatatgcctattggaagtggaatggttctgtcattgacgaag acgatccagtgtaggagaggactattatagcgtagaaaatcctgcaacaagaggcggtcactctgat aactgtcctgaacatcagtgagatcgagagccgatttataaacatccattcacatgtttcccaaaaataca cacgggatcgacgccctacattcagctgatctaccccgaaccaatttccagaagcacatgatcggga tatgctgacgctaaccgtgatcattgttctcagtggtcatttaacaagatctcaagatcgacatcgtcctt ggatagggatagctgttacgactttctgccattaaggcatcggatggcaaacctacgacgttcatct tgtacccaaagaccgtgggagaaggctcaacctccgactgtgacatttctgtctttaaaggctcctgag gtcctcgagaacagtggtgctataaaactgttcatctatggccgggatgactacgtgggagagatatagt tgaagtcataaatgaaaatgtaagaaatcacggaggtgatcatcattctagtgcgggagacctcaggtt ttcctggctcggcggctcctcagaggagcagattgcgatgtacaacgctctggtgcaagatggaatcaag gtggttctgttgagctcgaagatccaggattacgagaaaatgcccgagagcattaagtcatcaaca aaaacacggagccattagatggagtggtgatttcacgcaaggaccgagtcgccaagacacgttctg gaaaaacgtgcgctatcatatgcccgtcagaggagatccccctccagtaaacatcagctgttatctccg ggcactaaggaaaagcttcagcgcgaagcccatgttctcttggga (SEQ ID NO: 133)
cpIL-1β (89/88)	IL-1R3	atggccttaccagtgaccgccttgcctcctgccgtggccttgcctcaccgcccaggccgaactacc ccaaaaaaagatggagaagcgggttgttttaacaagattgagatcaacaataagctggaattcagctct gcgcagttccaaactggtatattagcacatcgcaagcagaaaatagcccgtgttctcggcggaacca aaggcgggagagatcacagactttacgatgcagttcgtgtcatctggtggtggaagcggcggggg gaggcagtgggggaggcgggtccgcccagtgaggtccctgaactgtacctaagagactcacagcaa aagtccctggtcatgtctggccctacgaactgaaagccctcacctgcaggggcaagataggagcag caggtggtttcagcatgagttttacagggcgaagagagtaatgacaagatacctgtggtcttaggact caaggaaaagaattgtatctcagctgcctcctgaaggacgataaacctactctttagtgaggtccgtc atccgaaatctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggg tccggggcgggaagctgcagtcgagcgggtgcgatgattggggcttagataccatgcggcagattcag gtgttcgaagacgagcctgctgcattaaatgccgctctttgagcacttctgaagtttaattacagcactg ctactccgagactcacactgatctggtattggacacgccaagacagagatctggaggagcccattaa tttaggctcccgagaacaggatcttaaggagaaggacgtgctgtggttccggccgacactactgaac gatactgggaattacacatgtatgcttcgaaataactcattgtccaaggtggttttccactgaggtggt gcagaaagacagctgtttatagccaatgaaactcccgtgcacaagctgtacatcgaatatggcatac agagaatcacatgccctaactgcagcggctacttccctagctcagtttaagccgaccataactggatatg ggctgtataaaatacagaacttcaataatgtaatcccggggatgaaactgagtttctgatcgcactg atatctaaacgggaactacactgtgtggtgacttatcccgagaacggacgcacattccatttgacaag gacgttaactgtcaaggtagtggttagtcttaagaatgcagttcctcccgtgattcacagccaatgatca cgtggtgatgaaaaagaaccaggtgaaactcctgatcccctgcaggtgtacttcttttaagggac tcccgtaatgaagtttggtggaccatcgacggcaaaaaactgatgatattaccatcgactgacaatcaa cgagagcattcacatagtcggaccgaagatgagacaagaaccagattcttagcataaaaaaagtact tctgaagacctgaagcgcagttacgtatgtcacgcgcatccgcaaaaggggaagttgccaaggctgcc aaggtgaagcagaaagtcctgcccacggtagaccgtagagctggcctgtggcttcggagctacgggt ttgctggtgttatccttatcgtcgtctatcatgtgactggttgagatggtgctttttatcgggcccatttcg ggaccgatgagacgattctagacggaaaggagtacgatattacgtctcgtacgccagaaatcgggagg aagaggaattcgtgctttaaacctgaggggagtactggaaaacgagtttgctacaagttgtgtattttg acagagattcactgccaggaggaattgactgacgagacactctcattcatcagaatctaggaggtg ctcgttctcagtcctcaaatatgtctccaaggcaccaggccttctagaactgaaggcggggcttga aaacatggcctctcggggaacatcaacgtaattctggtgcagtacaaagcagtgaaaggagaccaagt taaagagctgaaacgagccaagacagtcctcactgtcatcaagtggaaagtgaaaaatcaagtatcc acaagggagattctggaagcagcttcaagtcgctatgcccgtaagaagtccccctcgttctcctcgt gacgagcagggcctgagctacagctctcaagaatgct (SEQ ID NO: 134)
IL-6	IL-6Ra	atggccttaccagtgaccgccttgcctcctgccgtggccttgcctcaccgcccaggccgggtgccg ccggggaagatagcaaggatgtggctgctcctcagggcagccactgacaagcagcagagaaatcga caagcaataaggtatattcttgatggaatcagcgcgctgcgaaaggagacatgtaacaagtcgaatatgt gagcttccaaagaagcacttgcgaaaataatcgaacctcccaaaaatggccgagaagacggct gcttcagtcgggtttaaagcaggagactgttagtaaaagattataacggcctgttgaattcgaagctac

		<p>ctagaataacctcaaaaatagattcgagagtagtgaggaacaggccccgcgctgttcagatgtcaacaaaag tgttgatccaattcctgcagaaaaagccaagaacttagatgcaatcaccacacctgacccccactaccaat gcctctctgtcaccaagctgcaagcccagaaccagtggctgcaggacatgactaccatctaattctgc ggcttttaaggagtctcctcagtcacccctgcctgcacttcggcagatgtctggaggcggaagcggggg tggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggtccgggggcggaagtctgcagcttgacc aagacgctgtccggctcaggaggtcgctagggagtgctgacctcgtgccgggcgactccgtgacct tgacatgtcctggagtggagcctgaggacaacgcaacagttcactgggtgctacggaagcccgcgct ggctcccattcctcaggtgggcccggatggggcgcagactgcttctcagatcagtgacgttcatgata gcggttaattacagctgtaccgctggaaggccggcaggcactgtgacctcctagtggatgttccac ctgaggagccacagttgagctgcttcgaaaaagtcccttgtctaactcgtatgagagtgggggcctaga tcaactccctccctcaccacaaagcgggtctctcgtacgtaagtccaaaactcctcgcgaagatttc aagagccatgtcagtatagccaggagagtcagaagttctcatgccagcttcagtcgccggagggtgact catccttctatattgttagtatgtgcctgcctcgtctggtgggtctaagtttagcaagactcaaaccttccagg gctgcggcatcctccaaccagacccccctgccaacattacagtgaccgagttgccagaaacctaggt gggtgagcgtgacgtggcaggatcccattcctggaattcatcttacagactgagggttcagctccga tacagggcggaacgtagcaagacattcaccacgtggatggtaaacactgcagcaccactgtgtaac catgacgcttgagcggctgtgcgccacgtgggtccagctgcgggcacaagaggaattcggacagggtga atggagtgaatggctcctgaggctatggcactccgtggaccgaatctcggctccaccagccgaaaac gaagtgtccaccctatgcaggctctgactactaataaggatgacgataatcttgtttagggactccgca aatgtacatcactgcctgtacaggattcagtagtgtccctaccaaccttttagtcgccggagggtctc tggcgttcgggacgttctctgtatagccattgtgctgcgtttcaaaaagacctggaaactgcgcgcttaa aggagggaaaaacaagcatgacccccatattcttggcagctggtcccgaacggcccagacca acaccagctcgtgctcttataccccccctgagccccctctagcctgggcagtgacaataaccagtag ccataataggcccgcgcccagaccctcgtccccatacgatatctcaaacacagattatTTTTCCCg g (SEQ ID NO: 135)</p>
IL-6	gp130	<p>atggccttaccagtgaccgcttgcctcctgccgctggccttgcctcctcacgccccagggcgggtgccgc ccggggaagatagcaaggatgtggctgctcctcacaggcagccactgacaagcagcagagaaatcga caagcaataaggatattcttgatggaatcagcgcgctgcgaaaggagacatgtaacaagtcgaatatgt gagagcttccaagaagcacttgcgtgaaaataatctgaacctccaaaatggccgagaaagacggct gctttagctccggttttaacgaggagactgttagtaagattataacggccttgttgaaattcgaagtctac ctagaataacctcaaaaatagattcgagagtagtgaggaacaggccccgcgctgttcagatgtcaacaaaag tgttgatccaattcctgcagaaaaagccaagaacttagatgcaatcaccacacctgacccccactaccaat gcctctctgtcaccaagctgcaagcccagaaccagtggctgcaggacatgactaccatctaattctgc ggcttttaaggagtctcctcagtcacccctgcctgcacttcggcagatgtctggaggcggaagcggggg tggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggtccgggggcggaagtctgcaggaactcct ggacctcgtcgggtatattagccccgagctcccggtggtgcaactgattctaactcaccgcagtttgtg gctcaaagaaaagtgtatggattctccatgtaacgccaactacattgtgtgaaaaactaatctttacg atacacaaggagcagtacacaattatcaacagaaccgcatcatccgtcacattaccgatatgcctcctg aacattcagctgacatgtaatacttaacattcggtcaactggaacaaaacgtgtatggcatcaccatcatc ctggacttctccagaaaaacccaaaattgtcgtgtatcgtgaatgagggaaaaaaaatgcgctgtgaa tgggacggggccgggagactcacctcagacgaacttcaccttaagtcagagtgggacacataa atctccgactgcaagcaagagagataccccactcctgcaccgtgactattcaactgtgactcgt caacattgaggtgtgggtggaggcgggagaatgccctggcaaggttactccgaccacatcaacttgatc ccgtctacaagggtgaaaccgaaccaccaccacaacctgtccgtcattaattcagaggagctaagttctata ctcaagtttaactggacgaatcctccataaagagtgaattattctcaagtataacatcaatataaggacta aagatgcttaacctggtcacagatcccaccggaggacaccgcctctacaaggtcatcgttaccgtgca ggatcttaagccttaccagatgtgttcagaatccgatgatgaagaggacggcaaggggtattgg agcattggagcgaagaagctccggcattacctcagaggacaggccttcgaaagcacttcttctggt acaaaatcgatccttctcacactcagggtaccggaccgtgcagcttgtgtggaagactttgccaccattc gaggcaaatggaaagatactggattatgaggtcacactgacctggtgaaaagtcacttcgagaactata cagtaaaccgcccacaaactgacagtcactcactaacgatagatatttagcaacctgactgtacgaaac ctggtgggaaaatctgacgccgctgactatcctcgttgcacttccaggctaccaccctgttatg</p>

		<p>gatctgaaggccttccctaaggataacatgctatgggtcgagtggaccacaccaagggaaagcgtcaaa aagtatattctcgagtggtgcgttctgagcgacaaggcccatgtattacagactggcaacaggaggacg ggacagttcatcggacatatctgcgcgcaatctagctgaaagtaaatgctacctatcacgctcacgcca gtctacgccgacggcccgggctctccagagtcaatcaaggcttacctaaagcaggccctccctctaag gggccaactgtgagaacaaaaaggtaggtaagaatgaagccgctctggagtgggatcaactgccagt ggacgtacagaacggtttcattcgcaactacaccatctttacaggacgatcattgggaatgagacagcag tgaacgtggattctccataaccgaatacacgctcagcagctgacgtcggacacattgtacatggtcagg atggctgcatatacagacgaaggaggggaaggatgggcctgagttcacctttaccaccctaaagttcgtc agggcgagattgaagcaattgtggtgcccgatgcctggcctttctcttacgacactgctgggtgttctctt ttgcttaataagcgggacctcatcaagaaacacatttggcctaattgtcccgaccccagcaaaagtcaca tagcccagtggagccctcatactccccccgtcataatttaataagcaaggatcagatgtacagcgacggc aattttacagacgtgtccgtcgtcgaataagaagctaatagataagaagccctttctgaagacctgaaatcc ttggactattcaaaaaggagaagatcaataccgaaggcactctcagggatagggggcagcagttgc atgtcctcatcccgtccctctatcagctccagcgatgagaacgagagcagccagaatactagttccactgt tcagtacagcactgtagttcacagtggtatagacatcaggtcccagtggtcaggtgttctcaggagtg aatctaccagccgttggtagactcagaagaacgccagaagacctgcagctggtggaccacgtggatg gaggtgatggcattctccgcgcccagcaatacttaagcagaactgttctcagcatgaatccagccctgac atctctcacttgagcgaagcaaacaggtgtcaagcgtgaacgaagaggatttcgttcggcttaagcaaca gatatctgaccacatctcaaatctcgcggaagtggacaaatgaagatgttcaggaggttagtgccggcc gatgcttcggccctggcactgagggcaggtgaaagattcagagacagtgggatggaagccgctaca gatgagggatgccaaaagctacctccacaaaccgtgcggcagggaggatataatgccacag (SEQ ID NO: 136)</p>
scIL-12	IL-12-Rβ1	<p>atggccttaccagtgaccgccttctcctgcccgtggccttctgctcaccgcccagggccgatctggg agctcaaaaaggatgtttatgtggtcgaactgactggtaccgggacgcaccaggggagatggtggtgtt gacctgcgacacccccgaagaggacgggattacatggactttggaccagtcagtgaaagctctgggctc gggaaagacctgactatccaggtgaaggagtccggagatgctggacaatatacatgccacaagggcg gggaagtttgagccattccctcctgctgctcataaaaagaggatggtatttggagcactgatattctga aagaccagaaggaaccaagaacaaaactttctcgggtgtgaggccaagaattacagtggaagattca cctgttggtggttaaccacaatctctaccgatcttacctttccgtcaaatcaagtcgcccagcagcagc acagggcgtgacgtgcggcgtgcccactaagcgcggagagagtgcggggtgacaacaaggaata cgagtactccgttgagtgtcaagaagactctgcatgccctgcccagaggaatcattaccgatcgaagta atggtggatgctgttcacaaactgaagatgaaaactacacttctcattttcataagggacattatcaagcc tgatcctcaaagaacctccaacttaaacctcaagaatagccgtcaggtagaggtgtcctgggagtac cccgatacctggtcaacgcccactcataatttctcctgacgttctgtgtgaggtgcaggggaaatcaa gagggagaagaaagacagggctttacagataagacatctgccactgtcatctcgaaaaaatgctct atatccgtgcgagcccaggaccgctactattctagtagctggagcagagtggttagttacctgttcggg ctcaaccagcggatccgggaaaccgggtctggcgaggggagtaaaaagggacgaaatctccagtg gctacccccgacccggcatgtttccctgctccatcatagccagaatctgctcagagcggtcagcaaca tgctacagaagggcccagacccttagagttttacccttcacctctgaggaaatcgatcacgaagacatc accaaagataagactagcaccgtgaagcctgtctccattggaactacaaaaatgaatctgtctgaat tccagagagacatctttatcactaatggaagttgctcgcagtcggaaaactcctcatgatggccctgt gtctgagttcaatctacgaggatcttaagatgtatcaagtggaaatcaaacgatgaacgcaaaactgtga tgatcctaagaggcagatattttggatcagaacatgttagctgtgatcgacgagctgatgcaagcactca acttcaactcagagacagtcccccagaagtcctcctggaggagcctgacttctacaagacgaaaattaa gctatgcattctgcttcacgcattcaggatacgggcccgtacaattgaccgtgtgatgagctatctgaacgc ttcgtctggaggcggaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggggtccg ggggcggaagtctgcagtcagaactagcgaatgttttccaggacccccgatcccagcggcatt ccggaagcgcacccggaccctgacctgcggtctatcggattctagcgataggtacgaatgctcatg gcagtacgagggggccactgctgggtgagtcacttcttaagatgctgttaagtccgggaggtgctgct atttcggcaggggtcagctactcactacagtttctgaccaggctggagtaagcgtgctttatacagtg cactgtgggtcgaatctgggcccaggaacaaacggagaagtcacccgaggtgacctgcaactgtat aactcagtcacaaacgagcctcctctgggtgacattaaagtgtcgaaaactgcgggacagcttagaatgg</p>

		<p>agtgggagacccccgataaccaggtggcgagaggtgcagttccggcaccgaacaccctcatctctt ggaaactgggagattgtggtccgaggacgacgataccgagagttgctgtgtccctagagatgaatgt cgcacaggagttcagctgaggaggcgctcagctcggcagccaaggcagttcttggtcaaaatggtctc ccccgtctgcgtccccctgaaaatcctccacagccgaggttcgattcagcgtggaacaactcgggag gacgggagacggcgtgactcttaaggagcaaccaacgcagctcgaactcccagaaggttgccaggg cctggcacctggcaccgaggtgacctaccgtttgcagttacatagcttagttgcccttgaaggccaagg ctacacggacccttacctaggcaaaatgccatacctaagcgggtgctgcatacaacgtggcggctatttct tccaaccagttcggaccgggtctgaatcagacctggcacatccccgcagataccataccgaacctgtg gagctgaatatcagcgtgggcacaaatggcactacgatgtattggccggcccgcgtcaatctatgactt actgcatcgaatggcagcctggtgggcaagatggaggactcgcgacatgcagccttactgccccgagg acctgatccagcaggtatggccacttattctggagccgcgagtcggggccatgggacaggagaagt gttactacatcccatatttgcgtcagctcctcagaaaagctgacctgtggtcaaccgttctgagcat accacttcgggggcaatgcgtccgctgcaggcaccacaccacgtgtcgggtgaaaaaccactctctgg acagtgtgagtggtgactgggcccgaagcctgtgtccacatgtccgggggtgctcaaggaatatgtgtc cgctgcgagacgaggactcaaacaagtgtcgaacatccgtacagccaacggagaccaagtcac tctgtctggactgagagccggcgtggcctacacagccaagtgcgggcagatacagcttggttacgggg cgtatggagccagccacaaggttcagcattgaggtacaggtctctgattggtgattttttgccagctc ggcagtttctctctatctgttggcggagtggtgggctatctgggactgaatcgcgccagacatctgt gccccactcccacccatgtgctcctccgcatagaatttctgggggtaagagacatggcagtg gatcaaccctgtagacttcaggaggaggttagcctccaggaagcctggtgtggaatgtcatgggat aagggcgagagaacggaacctctcgagaagactgaactccgaggggagctcctgagctgcacttga cacagaactgtcttagaggatgggataggtgtaaggctaagatg (SEQ ID NO: 137)</p>
scIL-12	IL-12-Rβ2	<p>atggccttaccagtgaccgccttctcctgcccgtggccttctgctcaccgcccagggcagctggg agctcaaaaaggatgtttatgtggtcgaactgactggtaccgggacgcaccaggggagatggtggtgtt gacctgcgacacccccgaagaggacgggattacatggactttggaccagtccagtgaagtctgggctc gggaaagacctgactatccaggtgaaggagtccggagatgctggacaatatacatgccacaagggcg gggaagtttgagccattcctcctgctgctcataaaaagaggatggtatttggagcactgatattctga aagaccagaaggaaccaagaacaaaacttttctcgggtgtgaggccaagaattacagtggaagattca cctgttgggttaaccacaatctctaccgatcttacctttccgtcaaatcaagtcgaggcagcagctcc acagggcgtgacgtgcggcgtgcccactaagcgcggagagagtgcgggggtgacaacaaggaata cgagtactccgttgagtgtcaagaagactctgcatgccctgcccagagggaatcattaccgatcgaagta atggtggatgctgttcacaaactgaagatgaaaactacacttctcattttcataagggacattatcaagcc tgatcctcaaagaacctccaacttaaacctcaagaatagccgtcaggtagaggtgctcctgggagtac cccgatacctggtcaacgcccactcatatttccctgacgttctgtgtgaggtgcaggggaaatcaa gagggagaagaaagacagggctttacagataagacatctgccactgtcatctcgaaaaaatgctct atatccgtgcgagcccaggaccgctactattctagtagctggagcagagtggttagctgttctggg ctcaaccagcggatccgggaaaccgggtctggcgaggggagtaaaaagggacgaaatctccagtg gctacccccgaccggcatgtttccctgctccatcatagccagaatctgctcagagcgggtcagcaaca tgctacagaaggcccgcagaccttagagttttacccttgacctctgaggaaatcgatcacgaagacatc acaaagataagactagcaccgtgaagcctgtctccattggaactacaaaaatgaatctgtctgaat tccagagagacatctttatcactaatggaagttgcctcgcagtcggaaaactcctcatgatggcctgt gtctgagttcaatctacgaggatcttaagatgtatcaagtggaaatcaaacgatgaacgcaaaactgtga tgatcctaagaggcagatattttggatcagaacatgttagctgtgatcgacgagctgatgcaagcactca acttcaactcagagacagtcccccagaagtcctcctggaggagcctgacttctacaagacgaaaattaa gctatgattctgcttcacgcattcaggatacgggcccgaacaattgaccgtgtgatgagctatctgaacgc ttcgtctggaggcggaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcgggggggtccg ggggcggaagtctgcagaagattgacgcctgtaagcggagagatgtcacagtgaagcccagtcacgtg attctcctcggaagcacagttatcactgtctcctaaagccaaggcagggctgcttctactactccgg agaaataagctcatctgtacaagttgaccgcagaatcaacttccatcacggtcactctctgaattcgcag gtgacagggctgccgctgggtacgacgttattgtgtgcaactggcctgcatcaactctgacgagattca gatctgtggagctgaaatttctgtggcgtggctccagagcagccacagaacctctctgtattcagaaa gggagcagggcacagttgctgtacctgggagcgcggctcgagacactcactgtactgaatatacgc</p>

		<p>gaatttgcacatgcggtggaacagggcggcaccaggcgagcgcggtggtgggctgggcccgcg ggcgaagcgggctataaagcgttttagcagcctgctggcgagcagcgcggtgagcccggaaaaatgcg gctttggcgcgagcagcggcgaagaaggctataaaccgtttcagatctgattccgggctgcccggcg atccggcgcgggtgcccgtgctgtttacctttggcctggatcgcgaaccgcccgcagcccgcag agcagccatctccgagcagcagcccgaacatctggcctggaaccgggcgaaaaagtggagata tgccgaaaccgcccgtgcccaggaacaggcgaccgatccgctggtggatagcctgggcagcggcat tgttatagcgcgctgacctgccatctgtgcccctatgaaacagtgccatggccaggaagatggcgg ccagaccccgggtgatggcgagcccgtgctgcccgtgctgctgcccgcgacgcagcagcccggacc accccgtgcccgcgcccggatccgagcccggcgcgctgcccgtggaagcagcctgtgcccggcg agcctggcgcgagcggcattagcgaaaaaagcaaaagcagcagcagcttccatccggcgcgggca acgcgacagcagcagccagaccccgaaaattgtgaactttgtgagcgtgggcccacatatacgcg gtgagc (SEQ ID NO: 142)</p>
cpIL-4(38-37)	IL-2Ryc	<p>atggccttaccagtgaccgcttgcctgctgcccgtggccttgcctcaccgcccaggccgaatacga ctgagaaagagacctttttagggctgccacagtcctgcggcagttctatagtcaccatgagaaagacac cagatgtctggggcaaccgctcagcaattccatagacacaagcagttaatccgatttctgaagcggctg atcgaacttggggactagccggcctgaactcatgcccgtgaaagaagcgaatcagtcactcttga gaacttctcgaaggctcaagacaattatgcgcgaaaagtaagcagctctggcggaaaagg tgggcacaagtgtgatattacgctccaagaatcatcaagactctgaactccctgaccgagcagaaaaca ctttgactgagttgacagtgaccgacatattcggcctagcaaatctggaggcggaaagcgggggtggc ggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcggaagtctgcagctgaacacaac aatttcaaccctaacggcaacgaagacactaccgagatttttctactactatgccactgattcccttt ccgtgctgacctgcccgtgccagaagtgcagtgcttctttaaattgtagtatatgaattgtacatggaa ttctagcagcgaaccgagccaaccaatttgacattgcactactggtataaaaactcagataacgacaag tgcaagaagtgtcccactactatttagcagggaaataacctctgggtgccagctgcagaagaaggagat ccatctgtaccagaccttgcctgctgagctccaggatccacgggaaccacgcccggcaagctacccaat gctaaagctgcaaaatctcgttatccatgggcacctgagaatttgacactcataagctgctgggaatcca gctggagctcaattggaacaaccgtttctcaaccattgctggagcactggtgcagtacagaaccgact gggaccatagttggacggagcagagtgctgattatagacacaatttctactaccctcagtgagcgggca gaagaggtacacatttagagtaaggagtcggttcaatcccctgtgcccgtcccccactggagtgga gtggtctcatcctattactggggcagcaacacgtccaaggagaaccctttctgttctgctggaagctgtt gtgattcagtaggctctatgggattaatcatcagcctcctgtgtctatftttggctggagcgaacaatgcc caggatcccactctcaaaaatctggaagacctgtgacggagatcacggcaactcagcgcgtggtct ggcgtcttaaggcttccgagagcctgcagcctgattacagtgagcgttatgcctggtgagcgaga taccacctaaggaggagccctggtgaaggaccgggggcaccccctgtaatacaactcaccatact gggccccccctgctataccctaaagcctgaaact (SEQ ID NO: 143)</p>
cpIL-4(38-37)	IL-13Ra1	<p>atggccttaccagtgaccgcttgcctgctgcccgtggccttgcctcaccgcccaggccgaatacga ctgagaaagagacctttttagggctgccacagtcctgcggcagttctatagtcaccatgagaaagacac cagatgtctggggcaaccgctcagcaattccatagacacaagcagttaatccgatttctgaagcggctg atcgaacttggggactagccggcctgaactcatgcccgtgaaagaagcgaatcagtcactcttga gaacttctcgaaggctcaagacaattatgcgcgaaaagtaagcagctctggcggaaaagg tgggcacaagtgtgatattacgctccaagaatcatcaagactctgaactccctgaccgagcagaaaaca ctttgactgagttgacagtgaccgacatattcggcctagcaaatctggaggcggaaagcgggggtggc ggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcggaagtctgcagggcggcgcg gcccggcgccgaccgaaaccagcccgggtgaccaacctgagcgtgagcgtggaaaacctgtgca ccgtgatttgacctggaacccgcccgaaggcgcgagcagcaactgcagcctgtggtattttagcatttt ggcgataaacaggataaaaaaattgcgccggaaccccggcgagcattgaagtgccgctgaacgaac gcatttgcctgaggtgggagccagtgagcaccacgaaagcgaaaaaccgagcattctggtggaa aatgcaatgcccggcggaaaggcagatccggaaagcgggtgaccgaactgcagtgcaattggcataa cctgagctatatgaaatgagctggtgcccggcgcaacaccagcccggataccaactataccctgtat tattggcatcgagcctggaaaaatcatcagtgcgaaaacattttcgcgaaggccagtatftttggctgc agctttgatctgacaaagtgaagatagcagcttgaacagcatagcgtgagattatggtgaaagataa cgcgggcaaaaataaacgagcttaacattgtgccgctgaccagcccggctgaaaccggatccgcccga</p>

		<p>ggggaacctgacctcacagccaatacttaccgaatctccaagacaagtgcataataaccactt aactgaatgcgacttcaagcctgtctaagtatggcgatcatacactgcggtctggtccgagttgcca cgagcactctgactgggtgaatataaccttctgccccgctgatgatactataattgggccaccaggtatgc aagttgaagtgtggcagattcgtgcacatgaggttctgccccaaaatcgagaacgagtacgagac ctggacgatgaagaatgtctacaactcttgacatataatgttcagtattggaaaaacggaaccgacgaga agtttcagatcactccgagatgatttcaagctctgagaacctcgagccttgacaactactgtgtcc aagtgcgcggttctccctgaccggaacaaggcaggagagtggtcagaaccgggtgtgtgagcagacc accacgacgagacagtaccagctggatggtagctgtgatccttatggcctccgtgtcatggtttgtcta gctttgtgggctgtttgcccttctatgggtgctctataaaaagaccaatacgcgtttcacctagaacag cctccacagcacctcaaggagttcctggggcctcctcatcacaatacactgctgttcttctcctccccctg agtgcgaaaacgatgtgttgataaactgtccgtgattgcagaagacagtgagtcggcaaacagaatc caggagatagttgcagcctgggtacgctccccggacagggccccagagc (SEQ ID NO: 146)</p>
mIL-10	IL-10R1	<p>atggccttaccagtgaccgcttctcctgcccgtggccttctgctccacgcccagggcctgcccctg gccagggaacgcagagtgaaaatagctgtaccacttccccggcaacctaccaaatatgctcagagatct gcgggatgacttctcccgggtgaagacattttccaaatgaaggatcagttggacaaccttctgtgaagg agtcactcttagaggactcaagggatacctgggggtccaagcctgtctgagatgattcagttctacctg aagaggtaatgccacagggccgaaaaccaggaccctgataaaaagctcatgcaatagtttaggcgaga atctgaaaactctcaggctgctgtcgaagatgccaccgcttctgcccctgtgagaacgggggagggtc tggtggcaaaagcaagctgtggagcaagttaaaaatgcattcaacaactcaggagaagggtattata aggcgtatgccgaatttgacatctttattaattacatcgaagcctatatgaccatgaagatcaggaaactctgg aggcggaaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcgga agtctgcagcatgggaccgagctccccagctcctctgttggttcgaagcgaattctttaccatattct gactggactcctatccaaatcaatcagaatcaatggttacgaggtggcactgctgaggtacggaatc gagcttggaaatagcatttcaaactgtagccaaacctgtcttacgacttaccgctgtgacgctggacctgt atcatagcaacggctaccgtgccagggttagggcagttgatggcagcagacactccaattggacagttac gaatacccgattcagtgctgcagcaggtgactttaaactgtcgggagtgtaaccttgaattcacaacgggt catattggaaagatccagctccccggccaaaatggccccagccaacgacacatacagagatatttt tctcatttagagagatgagatcgcaatccgcaaggtgctgggaatttcacatttactcataagaaggtaa aacacgagaacttctccttctcactcctccggcgaagtgggggagttctgctgaggtgaagcctcgggt ggcttcacgctccaataaaggcatgtggagcaagaagaatgtatttctgactcggcagttaccgt gactaacgtaatcatatttttgccttctgctcctgctgtctggtgcccctggcctattgctggcgttcaact ttatgtcgggaggaggaagaagctgccgtccgtgctgttggtaagaaccgctcctccttattttatcagc cagcggcctcaccgaaacacaggatacttacccttgacgaagaagccttcttaagtgtccc ccgagctaaaaaacctcgactgcacgggtccaccgatagcgggttggtagaccaaacatccttgc aaaccgaggagccccagttcttctcctgatccacaccacaggctgacagaacgttgggaaacaga gagccccagtcctggggattcctgtctcagggctagtaatgtagcagatagcgggattgctcctgca ggagccgagcctgtcaccctcaaccgggtccgacctgggagcagcaagtaggatctaactcccggggc aggatgactccggcatagacctcgtacagaattcgggaaggccgggagggtgacacacagggcggtc cgctctggggcaccattccccaccagagcccaggtcctggcgaggaggacctgcagccgtcgctt ttcaaggctatctgctcagacacgatgtgctgaagagaaagctactaagacgggatgtcttgaagagga atctccgcttacagacgattgggaccaaagttcggcagatgcttagtgatgaggcgggactacatcct cccgattagcaagggtcactgaagcaggtaccactagaatgacactggcctcatctggcggccct acaggacagtgaaccagccaaccgaagatgggtccttctgctcctttagctcttgcagtgacctgggta tctcagattggagtttgcacacgacctgcccctctgggtgctgcccgtcctggtggactcttaggaa gtttcaatagcagatctgctcactctgcctctcatcagtagcttacagagcagcga (SEQ ID NO: 147)</p>
mIL-10	IL-10R2	<p>atggccttaccagtgaccgcttctcctgcccgtggccttctgctccacgcccagggcctgcccctg gccagggaacgcagagtgaaaatagctgtaccacttccccggcaacctaccaaatatgctcagagatct gcgggatgacttctcccgggtgaagacattttccaaatgaaggatcagttggacaaccttctgtgaagg agtcactcttagaggactcaagggatacctgggggtccaagcctgtctgagatgattcagttctacctg aagaggtaatgccacagggccgaaaaccaggaccctgataaaaagctcatgcaatagtttaggcgaga</p>

	<p>atctgaaaactctcaggctgctgtcgaagatgccaccgcttctgcctgtgagaacgggggagggtc tgggtggcaaaagcaaagctgtggagcaagttaaataatgcattcaacaaactcaggagaagggtattata aggcgtatgtccgaattgacatcttattaattacatcgaagcctatatgacatgaagatcaggaactctgg aggcggaaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggggtccggggcgga agtctgcagatggtaccaccacctgaaaatgtgaggatgaactctgtgaatttaagaacattctccagtgg gaaagtcccgcctttgctaagggaacctgacctcacagcccaatactatcctaccgaatcttccaagac aagtcatgaataaccactttaactgaatgcgacttctcaagcctgtctaagtatggcgatcatacactgagg gttcgtgccgagtttggcagcagcactctgactgggtgaatataacctctgccccgtcgatgatactata attgggccaccaggtatgcaagttgaagtgtggcagattcgtgcacatgaggtttctgccccaaaat cgagaacgagtagcagacctggacgatgaagaatgtctacaactctggacataataatgtcagtattgga aaaacggaaaccgacgagaagttcagatcactccgcagatgatttgaagtctgaaacctcagacc ttggacaacttactgtgtccaagtgcgaggcttctccctgaccggaacaaggcaggagagtggtcagaa ccggtgtgtgagcagaccaccacgacgagacagtaccagctggatggtagctgtgatccttatggcc tccgtgtcatggttgtctagcttgttgggctgtttgcccctctatggtgctgataaaaagaccaaatac gcgtttcacctagaacagcctccacagcacctcaaggagttcctgggcatcctcatcaatacact gctgttctctcctccccctgagtgacgaaaacgatgtttgataaactgtccgtgattgcagaagacagt gagtcggcaaacagaatccaggagatagttgcagcctgggtacgcctccggacagggcccccaga gc (SEQ ID NO: 148)</p>
<p>cpIL- 10(58/57)</p>	<p>IL-10R1 atggccttaccagtgaccgccttgcctgctcggccttgcctcaccgcccaggccgggttactt gggctgtcaggctctgagtgaaatgattcagttctatctgaagaggtatgcctcaggcggagaaccaag accagacatcaaggccatgtgaactctctcggggagaatctgaaaacactgcgactcgggttaagac gttgccacaggttctaccctgcgaaaataaaagcaaggccgtcagcaagtgaaaaacgcattcaata aactccaggaaaagggaattacaaggccatgtccgagttgatattataaactatattgaggcttaccat gacctgaagatccgcaatggtggtggtggaagcggcgggggaggcagtgggggaggcgggtcctc ccttggccagggaactcagtcagaaaatagctgcacacacttccagggaatctcccaacatggtgaga gatctgagggacgccttctcgggtgaaaaccttttccaaatgaaagaccagctggacaacctccttctg aaggagagttactagaggattcaagtctggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcggtggag gatcagtgggcgggggtcggggggcgaagtctgcagcatgggaccgagctcccagctcctctct gtttggtcgaagccgaattcttaccatattctgactggactcctatcccaatcaatcagaatcaatg ttacgaggtggcactgctgaggtacggaatcagcttggaaatgacattcaactgtagccaaacctgt cttacgatctaccgctgtgacgctggacctgtatcatagcaacggctaccgtgccagggttagggcagtt gatggcagcagacactccaattggacagttacgaatacccagttcagtgctgacgaggtgacttactgt cgggagtgtaaccttgaattcaaacgggtcatttgggaaagatccagctccccggcggcaaaaatg gccccagcaacgacacatacagaggtatatttctcatttagagagtatgagatcgcaatccgcaaggt gcctgggaatttcaattactcataagaaggtaaaacacagagaacttctccttctcactccggcgaagt gggggagttctgctgaggtgaaagccctcgtggttcacgctccaataaaggcatgtggagcaaaaga agaatgtatttctgactcggcagtaacttaccgtgactaacgtaataatattttgcttcgtctcctgctg tctggtgccctggcctattgctggtcctcaacttattgtgaggaggaggaagaagctgccgtcctgct gtttgtaagaaccgtctccttcaattttatcagccagcggccctcaccgaaacacaggatacttacc ccccttgacgaagaagccttctaaagtgtccccgagctaaaaaacctcagctgcacgggtccaccg atagcgggttggtagcaaaacctccttgcacaccgaggagccccagttcttctcctgatccacac ccacaggctgacagaacgttgggaaacagagagccccagctctgggggattctgttcgacagggtct agtaatgtagcagatagcgggatttgcctgacggagccgagcctgtcaccctcaaccggtccgacctgg gagcagcaagtaggatctaactcccggggcaggatgactccggcatagacctgtacagaattcggga aggccggggcgggtgacacacagggcggtcctcctgggcccaccattccccaccagagcccagggtc cctggcgaggaggacctgcagccgtcgttttcaaggctatctgctcagacacgatgtgctgaagag aaagctactaagacgggatgtctgaagaggaatctccgcttacagacggattgggacaaagttcggca gatgctagtggatgaggcgggactacatcctccgcattagcaaaagggtacctgagcaggatccac tagaatgacactggcctcatctggcggccctacaggacagtggaaaccgcaaccgaagagtggtcct tgctcgtttaagctcttgcagtgacctgggtatctcagattggagtttgcacacgacctgcccctctggg ttgcgtcggcctcctggtgactcttaggaagttcaatagcgatctcgtcactctgcctctcatcagtagc ttacagagcagcga (SEQ ID NO: 149)</p>

cpIL-10(58/57)	IL-10R2	<p>atggccttaccagtgaccgccttgctcctgcccgtggccttgctgctccacgccccaggccgggttactt gggctgtcaggctctgagtgaaatgattcagttctatcttgaagaggfctgctcaggccggagaaccaag accagacatcaaggcccatgtgaactctcggggagaatctgaaaactgcgactgcggttaagac gttgccacaggttctaccctgcgaaaataaaagcaaggccgtcgcagcaagtgaaaaacgcattcaata aactccaggaaaaggggaatttacaaggccatgtccgagtttgatatacttataaactatattgaggcttcat gacatgaagatccgcaatggtggtggtggaagcggcgggggaggcagtggggggaggcgggtctc ccctggccagggaactcagtcagaaaatagctgcacacacttccagggaatctcccaacatggtgaga gatctgaggggacgccttctcgggtgaaaacttttccaaatgaaagaccagctggacaacctccttctg aaggagagttfactagaggattcaagctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcggtggag gatcaggtggcggggggtccgggggcggaagtctgcagatggtaccaccacctgaaaatgtgaggat gaactctgtgaatttaagaacattctccagtgggaaagtccgcttttgtaaggggaacctgaccttca agccaatacttaccctaccgaatctccaagacaagtcatgaataaccctttaaactgacgacttctca agcctgttaagtatggcgatcatacactgcccgtctgcccagtttgccgacgagcactctgactgggt gaatataaccttctgccccgtcgatgatactataattgggccaccaggtatgcaagtgaaagtgttggcaga ttcgtgcacatgaggttctcgcacccaaaatcgagaacgagtagcagacctggacgatgaagaatgtc tacaactcttgacatataatgttcagtattgaaaaacggaaccgacgagaagttcagatcactccgca gtatgatttgaagtctgaaaacctcgagccttgacaacttactgtgtccaagtgcgaggcttctccct gaccggaacaaggcaggagagtggtcagaaccgggtgtgtgagcagaccaccacgacgagacagta cccagctggatggtagctgtgatccttatggcctccgtgttcaggttctagcttgggtggttggc cttctatggtgctctataaaaagaccaaatcgcgctttcacctagaaacagccttccacagcactcaag gagttcctggggcatcctcatcaatacactgctgttcttctcctccctgagtgacgaaaacgatgtgt ttgataaactgtcctgattgcagaagacagtgagtcggcaaacagaatccaggagatagttgcagcct gggtacgcctcccggacaggccccagagc (SEQ ID NO: 150)</p>
tdIL-10	IL-10R1	<p>atggccttaccagtgaccgccttgctcctgcccgtggccttgctgctccacgccccaggccgtctccgg gacaggggaaccagagcgaaaactcctgcactcattttctggcaacctcccaatatgctgcgagactt gcgcgacgcatttcaagggtgaagacgttcttccagatgaaggatcaactggacaacttattgctgaaa gaatctctgctcagagatttcaaaggatacctgggatgtcaggcactgagcagatgatccaattttacctg gaggaggtcatgctcaggtgagaatcaggatcctgacatcaaggccacgtgaacagtcttgagag aatcttaagacccttaggctgagacttagcgggtgcaccgcttctgcccctgcgaaaataatacaaaagc ggtggaacagggttaagaacgcttttaataagctgcaggaaaaggcattataaagctatgagtgaattg acattttcattaatatacagggcctatatgacaatgaaaattaggaacgggggaggcgggagcggggg cggcggctcaggcgggtggggggtcctctccagggtcaaggaacacaatctgagaactcctgcacacact ccccggcaatctaccaaacatgctcagagatctcaggacgcgttcagtcgagtgaaaactttctccaga tgaaggatcagctggacaatctactgctgaaagaaagctgcttgaggattttaaaggctatctgggtgtc aggccttatcggagatgatccagtttacttgagggaagttatgctcaggcagaaaaccaagaccgat atcaaggctcatgtgaattccctcgggtgaaaacctaaagaccttacgcctgctcagacgggtcatcg gttttgcatgagagaataagtcaaagccgtagagcaggtcaagaatgccttcaataagctccaggag aaggggatatacaaaagcaatgagcgaatttgacattttcatcaactacatagaggcctacatgacatgaa gatccggaactctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggg ggtccgggggcggaagtctgcagcatgggaccgagctcccagctcctctgtttggttcaagccg aattctttaccatattctgactggactctatccaaatcaatcagaatcaacatgttacgaggtggcact gctgaggtacggaatcgagcttggaaatagcatttcaaactgtagccaaacctgtcttaccatctaccgc tgtgacgctggacctgtatcatagcaacggctaccgtgccagggttagggcagttgatggcagcagaca ctcaattggacagttacgaatacccattcagtgctgacgaggtgactttaaactgctgggaggttaacct tgaattcacaacgggttcatattgggaaagatccagctccccggccaaaatggccccagccaacga cacatacagagatatacttctcattttagagagatgagatcgcaatccgcaaggtgcttgggaatttaca ttactcataagaaggtaaaacacgagaacttctccttgctcacctccggcgaagtgggggagttctgctg gcaggtgaagccctcgggtggcttcacgtccaataaaggcatgtggagcaaaagaagaatgatttctctg actcggcagttacttaccgtgactaacgtaatacatatttttgccttctgctcctgctgtctggtgccc tattgcctggcgcttcaactttatgtgcggaggaggaagaagctgccgtccgtgctgttttaagaaccg tctcccttattttatcagccagcggcctcaccgaaacacaggatacttacccttgacgaagaa gccttcttaagtgtccccgagctaaaaaacctgcacctgcacgggtccaccgatagcgggttggta</p>

		gcaccaaaccatccttgcacaccgaggagccccagttcttctcctgatccacaccacaggctgaca gaacgttgggaacagagagccccagtcctgggggattcctgttcgtagggcttagtaatagtagcga tagcgggatttgcctgcaggagccgagcctgtcacctcaaccgggtccgacctgggagcagcaagtag gatctaactcccgcgggcaggatgactccggcatagacctctacagaattcggaaaggccgggagggt gacacacagggcggtcctccttggccaccattccccaccagagccccaggtccttggcgaggagg accctgcagccgtcgtttcaaggctatctgcgtcagacacgatgtgctgaagagaagactactaagac gggatgtcttgaagaggaatctccgcttacagacggattgggaccaaagttcggcagatgcttagtgat gaggcgggactacatcctcccattagcaaagggctacctgaagcaggatccactagaaatgacactg gcctcatctggcggcctacaggacagtgaaccagccaaccgaagagtggctccttgcctttagct cttgacgtgacctgggtatctcagattggagtttgcacacgacctgcccccttgggttgcgtcggcgtc ctgtggactcttaggaagttcaatagcgtctcgtcactctgcctctcatcagtagcttacagagcagcg aa (SEQ ID NO: 151)
tdIL-10	IL-10R2	atggccttaccagtaccgccttgcctcctgcccgtggccttgcctcaccgcccaggccgtctccgg gacaggggaaccagagcgaaaactcctgactcatttcttggcaacctccccaatatgctgcgagactt gcgcgagcattctcaagggtgaagacgttctccagatgaaggatcaactggacaacttattgctgaaa gaatctctgctcaggattcaaaaggatacctgggatgtcaggcactgagcagatgatccaattttacctg gaggaggtcatgctcaggctgagaatcaggatcctgacatcaaggcccacgtgaacagcttggagag aatcttaagaccttaggctgagacttagacgggtgcaccgcttctgcctgcaaaataataaaaagc gggtggaacaggtaagaacgctttaaataagctgcaggaaaaggcattataaagctatgagtgaattg acattttcattaactatatacgaggcctatatagacaatgaaaattaggaacgggggaggcgggagcggggg cggcggctcaggcgggtggggggtcctcctcagggtcaaggaaacacaatctgagaactcctgcacacactt ccccggcaatctaccaaacatgctcagagatctcagggacgcgttcagtcgagtgaaaactttctccaga tgaaggatcagctggacaatctactgctgaaagaaagctgcttgaggatttaaaggctatctgggttgc aggccttatcggagatgatccagtttacttggaggaagttatgcctcaggcagaaaaccaagaccggat atcaaggctcatgtgaattccctcgggtgaaaacctaaagaccttacgcctgcgtcagacgggtgatcg gttttgcctatgcgagaataagtccaaagccgtagagcaggtcaagaatgccttcaataagctccaggag aaggggatatacaaagcaatgagcgaatttgacattttcatcaactacatagaggcctacatgacatgaa gatccggaactctggaggcgggaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcggggg gggtccggggcggaagtctgcagatgtaccaccacctgaaaatgtgaggatgaactctgtaatttaa gaacattctccagtgggaaagtcccgttttctaagggaacctgacctcacagccaactattatccta ccgaatctccaagacaagtgcataatacactttactgaatgcgacttctcaagcctgctaaagtatgg cgatcataactgcccgttctgcccaggttggcagcagcactctgactgggtgaataaacttctgcc ccgtcagatgatactataattgggccaccaggtatgcaagttgaagtgtggcagattcgtgcacatgagg ttctcggccccaaaatcgagaacgagtagacactggacgatgaagaatgtctacaactcttggacata taattttagtattggaaaaacggaaccgacgagaagtttcagatcactccgcagatgatttcaagtcct gagaaacctcagccttggacaacttactgtgtccaagtgcgaggcttctcctgaccggaacaaggca ggagagtgtcagaaccgggtgtgtgagcagaccaccacgacgagacagtaccagctggatggtag ctgtgatccttatggcctccgtgtctatggttcttagcttcttgggctgtttgcccttctatggtgcgtctat aaaaagaccaataacgcgtttcacctagaacagcctccacagcactcaaggagttctggggcatc ctcatcaataactgctgttcttctccttccccctgagtgacgaaaacgatgtgtttgataaactgtccgtg attgcagaagacagtgagtcggcaaacagaatccaggagatagttgcagcctgggtacgcctccggg acaggggccccagagc (SEQ ID NO: 152)
IL-13	IL-13Ra1	atggccttaccagtaccgccttgcctcctgcccgtggccttgcctcaccgcccaggccgttaacatg tctgggcccgggtcgcctcactggaccagttccccctcaaccgctctcagagaactgattgaggagctc gtcaatatcaccagaacaaaagccccactctgcaatggaagtatgggtgtggtctattaactgactgc cggcatgtactgtcccactggagctttgatcaacgtgtccgggtgcaagtgaatcgaagacgcag cggatgctgagcggctttgccccacaaggtgagcgtggtcagtttccagcctcactgagagatac aaagatagaagttagcagttcgtcaaggacctgctgctgcatcttaaaaaactatttccgagggtagg tcaattctggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcggtggaggatcaggtggcgggggggtccg ggggcggaaagtctgcaggcggcggcggcgccgaccgaaaccagccgccgggtgaccaa cctgagcgtgagcgtggaaaacctgtgcaccgtgatttggacctggaaccgcccgggaaggcgcgagca gcaactgcagcctgtggtattttagccattttggcgataaacaggataaaaaaattgcgccggaaccggc

		<p>cgagcattgaagtgccgctgaacgaacgcatttgcctgcaggtgggcagccagtcagcaccacga aagcgaaaaaccgagcattctggtggaataatgcattagcccgcgggaaggcgcagccgaaagcgcg gtgaccgaactgcagtcatttggcataactgagctatatgaaatgcagctggctgccgggcccgaaca ccagcccggataccaactataccctgtattattggcatcgcagcctggaaaaatcatcagtcgaaaac atfttcgcgaagccagatfttggctgcagctttgatctgaccaaagtgaagatagcagctttgaacag catagcgtgcagattatggtgaaagataacgcgggcaaaattaaccgagcttaacattgtgccgctgac cagccgctgaaaccggatccgcccataataaaacctgagcttcataacgatgatctgtatgtcagtc gggaaaaccgcagaactttattagccgctgctgtttatgaaatggaagtgaacaacagccagaccga aaccataacgtgtttatgtcaggaagcgaatgcgaaaaccggaaattgaacgcaacgtggaaaac accagctgctttatggtgccggcgtgctgcccggataccctgaacaccgtgcgcattcgcgtgaaaacca acaaactgtgctatgaagatgataaactgtggagcaactggagccaggaatgagcattggcaaaaaac gcaacagcacctgtatattaccatgctgctgattgtgccgggtgattgtggcgggcccgcgattattgtgctgc tgctgtatctgaaacgcctgaaaattatttttccgcccattccggatccgggcaaaattttaaagaatg ttggcgtacagaacgatgataccctgcattggaaaaatgatattatgaaaaacagaccaagaaga aaccgatagcgtggtgctgattgaaaacctgaaaaagcgagccag (SEQ ID NO: 153)</p>
IL-13	IL-4Ra	<p>atggcctaccagtgaccgccttgcctgcccgtggccttgcctcaccgcccagccgcttaacatg tctgggcccgttcgcctcactggaccagttccccctcaaccgctcagagaactgattgaggagctc gtcaatatcaccagaacaaaaagccccactctgcaatggaagtatggtgtggtctattaactgactgc cggcatgtactgtgccgactggagctttgatcaacgtgtccgggtgcagtcgaatcgaagacgcag cggatgctgagcggctttgccccacaaggtgagcgtggtcagtttccagcctcacgtgcgagatac aaagatagaagtgcagctcgtcaaggacctgctgctgcatcttaaaaaactfttcgcgagggtagg tcaattctggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcgggtggaggatcaggtggcggggggtccg ggggcggaaagtctgcagatgaaagtgtgcaggaaccgacctgcgtgagcgtattatagcattagca cctgcgaatggaaaatgaacggcccgaactgcagcaccgaactgcgctgctgtatcagctggtgt ttctgctgagcgaagcgcatacctgcattccgaaaacaacggcggcggcgggtgctgctgtccatctgc tgatggatgatgtggtgagcgcggataactataccctggatctgtggcggggccagcagctgctgtgga aaggcagcttaaacaggagcgaacatgtgaaaccgcgcgcccgggcaacctgaccgtgcataccaac gtgagcgcatacctgctgctgacctggagcaaccctatccgcccgataactatctgtataaccatctgac ctatgcggtgaacattggagcgaaacgatccggcggatttgcattataacgtgacctatctggaacc gagcctgcgcattgcggcgcagcaccctgaaaagcggcattagctatcgcgcgcgcgtgcgcgcgtgg gcgcagtgctataacaccctggagcgaatggagcccagcaccaaatggcataacagctatcgcga accgtttgaacagcactgctgctggcgtgagcgtgagctgattgtgattctggcgggtgctgctgctgt gctatgtgagcattacaaaattaaaaagaatggtgggatcagattccgaaccggcgcgcagccgccc tggtggcgattattcaggatgcgagggcagccagtgggaaaaacgcagccgcccggccaggaacc ggcgaatgcccgattggaaaaactgctgaccaaactgctccgctgtttctggaacataacatgaaa cgcgatgaagatccgcataaagcggcgaagaaatgcccgttcaggcagcggcaaaagcgcgtggt gcccgtggaaattagcaaacctgctgtggccgaaagcattagcgtggtgcgctgctggaactgt ttgaagcggcgtggaatgcgaagaagaagaagaatggaagaagaaaaaggcagcttttgcgcgag cccggaaagcagccgcatgatttccaggaaggccgcaaggcattgtggcgcgcctgaccgaaagc ctgttctggatctgctgggcaagaaaacggcggccttttccagcaggatagggcgaagactgcctgc tgcccgcgagcggcagcaccagcgcgcataatgcccgtgggatgaatttccagcgcgggcccgaaga agcggcccgtggggcaagaacagccgctgcatctggaaccgagcccgcggcgcgagcccagccca gagcccggataacctgacctgaccgaaaccctggtgattgcgggcaaccggcgtatcgcagct ttagcaacagcctgagccagagcccgtgcccgcgcaactgggcccggatccgctgctggcgcgcca tctggaagaagtgaaccggaatgccgtgctgcccagctgagcgaaccgaccctgcccgcag ccggaaccggaaacctgggaacagattctgcgccgaacgtgctgagcatggcgcggcggcggcggc ccggtgagcgcgcgaccagcggctatcaggaatttgcagtcgggtggaacaggcggcaccagg cgagcgcggtggtggcctgggcccggggcgaagcgggctataaagcgtttagcagcctgctggc gagcagcgcggtgagcccggaaaaatgcccgtttggcgcgagcagcggcgaagaaggctataaacc gtttcaggatctgattccgggctgcccggcgatccggcgcgggtgcccgtgcccgtgtttaccttggc ctggtatgcgaaccggcgcagcccgcagagcagccatctgcccagcagcagcccggaaacatctg ggcctggaaccgggcaaaaaagtggaagatgcccgaaccggcgtgcccaggaacagggcagc</p>

		gatccgctggtggatagcctgggcagcggcattgtgtatagcgcgctgacctgccatctgtgcgccatc tgaaacagtgccatggccaggaagatggcggccagaccccggtgatggcgagcccgtgctgcggtg ctgctgcgcgatcgagcagcccgcgaccaccccgctgcgcgccggatccgagcccggggcg cgtgccgctggaagcagcctgtgccggcgagcctggcgccgagcggcattagcgaaaaagcaa aagcagcagcagcttcatccggcgccgggcaacgcgcagagcagcagccagaccccgaaaattgtg aaccttgtagcgtgggcccagcctatatgcgcgctgagc (SEQ ID NO: 154)
cpIL- 13(75/74)	IL-13Ra1	atggccttaccagtgaccgccttgcctcctgcccgtggccttgcctccacgccgccaggccggtgagc gccccccagtttagcagcctgcatgtgcgcataccaaaattgaagtggcgagtttgaagatctgc tgctgcatctgaaaaactgttctcggaaggccgcttaacggaggaggtggatctctgacctgcctggg cggctttgagagcccggggcccgggtgccgcccagcaccgcgctgcgcgaaactgattgaagaactggtg aacattaccagaaccagaaaagcggcctgtgcaacggcagcatggtgtggagcattaacctgaccgc gggcatgtattgcgcgccgctggaaaagcctgattaacgtgagcggctgagcgcgattgaaaaacc agcgcagctgagcggctttgcccgataaatctggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcg tggaggatcaggtggcgggggggtccggggggcggaaagtctgcagggcgccggcgccggcgccg accgaaaccagccgcccgtgaccaacctgagcgtgagcgtggaaaacctgtgcaccgtgattggac ctggaaccgcgggaaggcgcgagcagcaactgcagcctgtggtattttagccattttggcgataaca ggataaaaaattgcccggaaaaccgcgcagcattgaagtgcgctgaacgaacgatttgcctgca ggtgggcagccagtcagcaccacgaaaagcgaaaaaccgagcattctggtgaaaaatgcattagcc cgccggaaggcagatccggaagcgcgggtgaccgaaactgcagtgacatttggcataacctgagctatga aatgcagctggctgccgggcccgaacaccagcccggataccaactataccctgtattattggcatcgcag cctggaaaaattcatcagtcgaaaaacattttcgcgaaggccagttttggctgcagctttgatctgacc aaagtgaagatagcagcttgaacagcatagcgtgagattatggtgaaagataacgcgggcaaaatta aacggagctttaaactgtgccgctgaccagccgctgaaaccggatccgccgcatataaaaacctgag ctttcataacgatgatctgtatgtcagtgggaaaaccgcagaactttattagccgctgctgtttatgaa gtggaagtgaacaacagccagaccgaaaccataacgtgtttatgtgcaggaagcgaatgcgaaaac ccggaatttgaacgcaactggaaaaaccagctgctttatggtgccgggctgctgcccggataccctg aacacctgcgcatcgcgtgaaaaccaaaaactgtgctatgaagtataactgtggagcaactgga gccaggaaatgagcattggcaaaaaacgcaacagcacctgtatattaccatgctgctgattgtccggt gattgtggcgggcccgcgattattgtgctgctgctgtatctgaaacgcctgaaaattatttttccgcccattc cggatccgggcaaaaattttaaagaaatgttggcgatcagaacgatgataccctgcattggaaaaatat gatatttataaaaaacagaccaagaagaaccgatagcgtgggtgctgattgaaaacctgaaaaagcg agccag (SEQ ID NO: 155)
cpIL- 13(75/74)	IL-4Ra	atggccttaccagtgaccgccttgcctcctgcccgtggccttgcctccacgccgccaggccggtgagc gccccccagtttagcagcctgcatgtgcgcataccaaaattgaagtggcgagtttgaagatctgc tgctgcatctgaaaaactgttctcggaaggccgcttaacggaggaggtggatctctgacctgcctggg cggctttgagagcccggggcccgggtgccgcccagcaccgcgctgcgcgaaactgattgaagaactggtg aacattaccagaaccagaaaagcggcctgtgcaacggcagcatggtgtggagcattaacctgaccgc gggcatgtattgcgcgccgctggaaaagcctgattaacgtgagcggctgagcgcgattgaaaaacc agcgcagctgagcggctttgcccgataaatctggaggcggaaagcgggggtggcggcagcggcg tggaggatcaggtggcgggggggtccggggggcggaaagtctgcagatgaaagtgtgcaggaaccgac ctgctgagcagattatagcattagcacctgcgaatggaaaatgaacggcccagcaactgcagcac cgaactgcgcctgctgtatcagctggtgttctgctgagcgaagcgcataacctgcattccggaaaaaac ggcggcgcgggctgctgtgccatctgctgatggatgatgtggtgagcgcggataactataccctggat ctgtgggcccggcagcagctgctgtgaaaggcagctttaaaccgagcgaacatgtgaaaccgcgcg gccgggcaacctgaccgtgataccaacgtgagcgcataccctgctgctgacctggagcaaccgatatcc gccggataactatctgataaccatctgacctatgcgggtgaacatttggagcgaaaaacgatccggcggatt ttcgattataacgtgacctatctggaaccgagcctgcgattgcccgcagcaccctgaaaagcggcatt agctatcgcgcgcgctgcgcgctgggcccagctgataaacaccctggagcgaatggagcccga gcaccaaatggcataacagctatcgcgaaccgttgaacagcatctgctgctgggctgagcgtgagct gcattgtgattctggcgggtgctgctgctgtatgtgagcattacaaaataaaaaagaatggtgggatc agattccgaaccggcgcagcccctggtggcgattatttccaggtgagcagggcagccagtg gaaaaacgcagcccggccaggaaccggcgaatgcccgattgaaaaactgctgaccaactgc

	<p>tgccgtgctttctggaacataacatgaaacgcgatgaagatccgcataaagcggcgaaagaaatgccgtt tcaggcagcggcaaaagcgcgtggtgcccggtggaaattagcaaaaccgtgctgtggccggaaagc attagcgtggtgctgctgctggaactggttgaagcgcgggtggaatgcgaagaagaagaagtggga agaagaaaaagcagcctttgcgcgagcccggaaagcagccgcgatatttcaggaaggccgcgaa ggcattgtggcgcgctgaccgaaagcctgtttctggatctgctggcggaagaaaacggcggttttgc agcaggatattggcgaaagctgctgctgcccggagcggcagcaccagcgcgcatatgccgtggga tgaatttccgagcgcgggcccgaagaagcgcggccgctggggcaagaacagccgctgcatctggaa ccgagcccggcgagcccagccagagcccggataacctgacctgaccgaaaccccgtggtg attgcccgaacccggcgtatcgagctttagcaacagcctgagccagagcccgtgccgcgcaact gggcccggatccgctgctggcgcgcatctggaagaagtgaaccggaaatccgtgctgcccag ctgagcgaaccgaccaccgtgccgagccggaaccggaacctgggaacagattctgcccgcgaacg tgctgcagcatggcggcgccggcgccgggtgagcgcgcccagaccagcggctatcaggaatttgcg gcggtggaacagggcggcaccagcgcgagcgcgggtggtgggctgggcccggcggaagcgg gctataaagcgtttagcagcctgctggcgagcagcgcgggtgagcccggaaaaatcggtttggcgcg agcagcggcgaagaaggctataaacctttcaggatctgattccgggctgcccggcgatccggcgc ggtgccggtgccgctgtttacctttggcctggatcggaaccggcgagcccgcagagcagccatct gccgagcagcagcccgaacatctgggctggaaccggcgaaaaagtgaagatatgccgaacc gccgctgccgaggaacagcgcaccgctgctggtgtagcctgggagcggcattgtgtatagcg cgctgacctgccatctgtgcccctctgaaacagtgccatggccaggaagatggcggccagaccccg gtgatggcgagcccgtgctgcccgtgctgctgcccgcgagcccggaccaccccgtgc gcgcccggatccgagcccggcgccgctgcccgtggaagcgcgagcctgtgccggcgagcctggcg ccgagcggcattagcaaaaagcaaaagcagcagcagcttcatccggcggggcaacgcgcaga gcagcagccagaccccgaattgtgaactttgtgagcgtgggcccagctatatgcccgtgagc (SEQ ID NO: 156)</p>
IL-18	<p>IL-18Ra atggccttaccagtgaccgccttctcctgcccgtggccttctgctcaccgcccagccgctatttgg caaacctgaaagtaagctgagcgtgattcggaaatcttaacgatcaggtgtattcatcgatcaaggcaaca gaccactcttgaagatatgacagattcagactgtaggataatgccctagaccatctttattataagcat gtataaggactctcagcccgcggtatggcagtaacgattagcgttaagtgcgagaagattctacacttc atcgaaaaacaaaatcatctccttcaagagatgaaccctcccgataatatcaagataccaagtgcggac ataatttctttcagagatccgtcccaggacacgacaataagatgcaattcgaatccagcagttacgaggg atacttctggcttgtagaaggacgtgactgttcaactgatcctgaagaaaggagcagcagctaggg gaccgatctatcatgttactgtgcagaacgaggactctggaggcggaaagcgggggtggcggcagcg gcggtggaggatcaggtggcggggggtccggggcggaagtctgcaggccgagagctgcactagcc ggccccataactgtggtcgaaggggagccattctatctgaaacattgttctgctccttgcctatgaaa ttgaaaccacaaccaagagctggtacaaatctagtggtctcaagagcagctcagttgaaccaagatc atctagtaggatcgccctgcatgactgcttctagatgtttggcgggtggaattaaatgacaccggatctta cttctccagatgaagaattacaccgaaatggaagctgaaactgatacgcgcaacaagcactcatgc ttcacagaacgtcaggtgacctgaaaatcgtggaagtgaaaagttctttcagattacatgcgagaacag ttactatcaaacgctagtgaatagcacgagcctgtacaaaaactgtaagaaacttctgctggagaacaata aaaaccctactatcaaaaaaatgcagaattcagggatcagggctattacagttgtgtcattttctccacc acaatggtaagctattcaatatccaagacgttcaacatcaccattgtggaggatcgtccaacatagtac ctgtgttattgggtcctaaactaaccagctggcagtgaggctggggaaaaacgtgagactcaattgtca gccttctgtaacgaagaggatgttatttggatgtttggggaagaaaatggaagtgcccgaacattca cgaagagaaggagatgcgaatcatgacaccagaggggaaatggcacgcgagtaaggtctcagaatt gaaaatattggcgaatcaaatcgaactcctataactgtaccgtagcatccacaggcggcactgatact aagtcctttatccttgtgcgtaaggccgatatggctgacatcccggccacgtattcacacggggaatgat cattgctgttctgatcctggtggcagtagtgtgtttggttactgtatgtgtatctaccgctggacttagtctg ttttataggcacctgaccggaagagacgaaacccttacagatggcaagacttatgacgcttctgtcgtgta tcttaagaatgccggcccgagaatggagaggagcacacgtttgctgcaaaattctcccagagtcctg gagaagcattttggttacaagctgtgcatctcgaagagacgtcgtgccgggtggcggcgtggtcgacg agatacattccctgatcgaagtcggcaggtgatcatagtcctctcaaaagcttcatgagcaatgagg tgcggctacgaactcgagagcggactgcatgaggctttagtcgagaggaagattaagatttttgcgag</p>

		tttacacctgtgactgactttaccttctcctcagtcactgaaactccttaagtctcacagggtactgaagtg gaaagctgataaatccctctcttataatagccggttttgaagaacctattgtacctgatgccagccaaaac agtcaagcctggacgcatgagcccgaagtctgccagttctgagcgagtcc (SEQ ID NO: 157)
IL-18	IL-18R β	atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgccaggccgtattttgg caaacctgaaagtaagctgagcgtgattcggaaatcctaacgatcaggtgtattcatcgatcaaggcaaca gaccactcttgaagatatgacagattcagactgtaggataatgccctaggaccatctttattataagcat gtataaggactctcagccccgcggtatggcagtaacgattagcgttaagtgcgagaagattctacacttc atgcaaaaacaaaatcatctccttcaagagatgaacctcccgataatatcaagataccaagtccggac ataattttcttcagagatccgtcccaggacacgacaataagatgcaattcgaatccagcagttacgaggg atactttctggcttgtagaaggaacgtgactgttcaaacctgatcctgaagaaaggagcagctaggg gaccgatctatcatgttactgtgcagaacgaggactctggaggcgggaagcggggggtggcggcagcg gcggtggaggatcaggtggcggggggtccggggggaagtctgcagtttaatatctctggtgagcgt acgaagaaattgctctggacatactactaggagcaggaagagttcgtgctttctgcgattaccagaa ccacagaaatcccattttgtcacagaaatcgtctttctcctaagcaggtcccgaacacctgccctcatgg gctccaacgacctagtacgttcaatggtaccagcaaccaagcaatggcgacctctggaagacatac gcaagagttaccccatattatccaggataaatgcaagcctacattcctgaccccaggcgtcaacaacagt ggatcttatatgtaggcctaagatgatcaaatcccctacgacgtggctgttgctgcaagatgattctcg aggtgaagccccagaccaatgcctcatgtgagtactccgcctctcacaacaggacctctgctggggtc gaccggcagataagctgcccatcgctcttctgtagagtgatgagcagagccctgctgtgacatggtag aaaaacggaaagctactgtcagtgagcgtcaaacctgattgtagtagacgaagtctacgactatcacc aaggcacctacgtgtgattatacacagctgatacggctccagttggactgtgccccgctgggtgca ggtagggaccatcgtgggggacacaaaactgaagcccagatcctgatccagttgaggacacctgg aggtggagctcgggaagcccctgactatctcctgtaaagcaagattggcttcgagcagatattaacct gttatcaagtggtatattaagatagcgtatcagtgaggaggtatcagtgctgaagccaaatccatcaa atcaacttgaaggatgaaatcattgagcgaatattattcttgagaaggttaccagcgcgatctccgccc caaatttctgctcctgcaaaaacagcataggcaatactactcagagcgtgcagctgaaagagaagcgt gggtgctctgtgtacatcctgctcggaacaattggtacactcgtagccgtgtggccgctcagccctg ctctacaggcattggattgaaatcgtgttcttacaggacatatcagagcaaggaccagactctgggcca caaaaaggattcgatgattcgttagctatgctaaatggtcttcattcctagcgaagctacatcctcctga gagcaggaacacttagccttactggttccagatgtgttagaaaataataggctatagcctgtgtttgctg gagcgcgacgtgcaccaggggggggtgtatgctgaagacatcgtcagcatcatcaagcggctccaggag gggaatattatattaagccctaactacgtcaacggtccatcgattttcgaactgcaggctgcagtgaaactg gagcctgatgaccagacgctcaagctgattctcatcaagttctgctactttcaagcccagctcttctc acctagtcaagaaggcgtgagagctcctccgaccgtgacatggcgaggactaaagtctgtgccgccc aattccagattctggcaagatgaggtatcatatgccgttaaaaattccaagtttacttgaaccag ctgaggattaccagtcggatcttcagtggaaggggctgtctagaaccgagaccaccggaagatccagt caaccxaaagaatgg (SEQ ID NO: 158)

Таблица 11а – Аминокислотные последовательности типового анти-HER2 химерного антигенного рецептора (CAR)

Сигнальный пептид CD8a	MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 174)
HER2 scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLI YSASFLLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFG QGTVKVEIKRTGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGQGLVT VSSSG (SEQ ID NO: 159)

Шарнирная область CD8a	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (SEQ ID NO: 160)
Трансмембранный домен CD8a	YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO: 161)
Стимулирующий домен CD3ζ	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 162)
Полный CAR	MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSRGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTGSTSGSGKPGSGEGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDVWGQGLVTVSSSGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 163)

Таблица 11b – Последовательности ДНК типового анти-HER2 химерного антигенного рецептора (CAR)

Сигнальный пептид CD8a	Atggccttaccagtgaccgacctgctcctgcccgtggccttctgctccacgccgccaggccg (SEQ ID NO: 164)
HER2 scFv	Gacattcaaatgacacagagtcacctcaccctcagtgccagcgtgggcgatcgggtgactataacctgcagagcttctcaggacgtgaataaccgctgtggcgtgggtaccagcagaagccaggcaaaagcgcctaagcttctcattatagtgccagcttctgtactcaggtgtccgctcgcgttttctggaagtagaagtgaggaccatttcacattgacgatcagcagcttcagcccgaagatttcgccacctactactgtcagcagcactacactaccaccacatttggtcaaggcacaaaagtagagattaaacgcactggtccaccagcgggagcgggaaaccggctctggggaggggagcgaggtccagctggtggaatccgggggtggtcttctgagccaggaggatcctgaggtgtcctgcccgaagcggcttaacatcaaagatacatacattgggtccgacagggccctggaaaggcctggagtgggctgcccggatctaccaactaacgggtactactcgtacgctgatagcgtcaagggtcggttactattctgccgacacctcaaaaaacacagcctacctcagatgaactctcagagctgaggatacagccgtgtactattgagccgggtggggagggcaggggtctacgctatggatgtgtggggcagggcacactggtcaccgtgagctcatccgga (SEQ ID NO: 165)
Шарнирная область CD8a	Accacgacgccagcggcggaccaccaacaccggcgcccaccatcgctgcagcccctgtccctgcccagaggcgtgccggccagcggcggggggcagctgcacacgagggggctggacttcgctgtgat (SEQ ID NO: 166)
Трансмембранный домен CD8a	Atctacatctgggcgccctggccgggactgtggggctctctcctgtcactggttatcacccttactgc (SEQ ID NO: 167)
Стимулирующий домен CD3ζ	Agagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggatcagatgtttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcagcggcggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtagccaccaaggacacctacgagccctcatgagccctgcccctgc (SEQ ID NO: 168)
Полный CAR	atggccttaccagtgaccgacctgctcctgcccgtggccttctgctccacgccgccaggccggacattcaaatgacacagagtcacctcaccctcagtgccagcgtgggcgatcgggtgactataacctgcagagcttctcaggacgtgaataaccgctgtggcgtgggtaccagcagaagccaggcaaaagcgcctaagcttctcattatagtgccagcttctgactcaggtgtccgctcgcgttttctggaagtagaagtgaggaccgatttcacattgacgatcagcagcttcagccc

	gaagatttcgccactactactgtcagcagcactacactacccaccgacatttggtcaaggcacaaaagtagag attaaacgcactggtccaccagcgggagcgggaaaccggctctggggaggggagcaggtccagctggtg gaatccgggggtggtcttgtcagccaggaggatccttgagggtgtcctgcgccgcaagcggcttaacatcaaa gatacatacattgggtccgacaggccctggaaagggcctggagtgggtcgccggatctaccaactaa cgggtacactcgctacgctgatagcgtcaagggtcggttactatttctgccgacacctcaaaaaacacagcctac ctccagatgaactctcagagctgaggatacagccgtgtactattgcagccggggggaggcgacgggttctac gctatggatgtggtggggcagggcacactggtcaccgtgagctcatccggaaccacgacgccagcggccgca ccaccaacaccggcgcccaccatcgctgcagccctgtccctgcccagaggcgtgcccggccagcggc ggggggcgcagtgcacacgagggggctggacttcgctgtgatactacatctgggcgcccttgccgggactt gtggggctcctctcctgtcactggttatcaccttactgcagagtgaagttcagcaggagcgcagacgccccgc gtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgtttggaca agagacgtggccggaccctgagatggggggaaagccgagaaggaagaacctcaggaaggcctgtacaat gaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcggcggaggggcaa ggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccc tgccccctgc (SEQ ID NO: 169)
--	--

Таблица 12 – Аминокислотные последовательности типовых хемокинов

hCCL19	MALLLALSLLVLTWSPAPTLSGTND AEDCCLSVTQKPIPGYIVRNF HYLLIKDGC RVP AVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAK MKRRSS (SEQ ID NO: 178)
hCXCL12	MNAKVVVVLVLTALCLSDGKPVSLSYRCPCRFFESHVARANV KHLKILNTPNCALQIVARLKNNNRQVCIDPKLKWIQEYLEKALNK (SEQ ID NO: 179)

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[0316] Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что различные изменения, модификации и усовершенствования настоящего изобретения легко придут на ум специалистам в данной области техники. Предполагается, что такие изменения, модификации и усовершенствования являются частью настоящего изобретения и находятся в пределах сущности и объема изобретения. Соответственно, вышеприведенное описание и графические материалы приведены только в качестве примера, и любое изобретение, описанное в настоящем описании, дополнительно описано подробно в нижеприведенной формуле изобретения.

[0317] Специалисты в данной области техники поймут типичные стандарты отклонения или ошибки, связанные со значениями, полученными в анализах или других процессах, как описано в данном документе. Публикации, веб-сайты и другие справочные материалы, на которые даны ссылки в данном документе для описания предпосылок создания изобретения и предоставления дополнительных подробностей относительно его практического применения, включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Модифицированная иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор,
причем модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, и при этом цитокин связывает цитокиновый рецептор.
2. Модифицированная иммунная клетка по п. 1, отличающаяся тем, что слитый белок является мембраносвязанным.
3. Модифицированная иммунная клетка по п. 1 или п. 2, отличающаяся тем, что линкер представляет собой гибкий линкер.
4. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–3, отличающаяся тем, что линкер представляет собой расщепляемый линкер.
5. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–4, дополнительно содержащая химерный антигенный рецептор (CAR).
6. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–5, отличающаяся тем, что слитый белок дополнительно содержит сигнальный пептид.
7. Модифицированная иммунная клетка по п. 6, отличающаяся тем, что слитый белок содержит от N-конца к C-концу: сигнальный пептид, цитокин, линкер и цитокиновый рецептор.
8. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–7, отличающаяся тем, что слитый белок содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 2a, таблицы 2b, таблицы 3a, таблицы 3b, таблицы 6, таблицы 8 или таблицы 9.

9. Модифицированная иммунная клетка, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор, причем модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, и при этом цитокин связывает цитокиновый рецептор.
10. Модифицированная иммунная клетка по п. 9, отличающаяся тем, что слитый белок является мембраносвязанным.
11. Модифицированная иммунная клетка по п. 9 или п. 10, отличающаяся тем, что линкер представляет собой гибкий линкер.
12. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–11, отличающаяся тем, что линкер представляет собой расщепляемый линкер.
13. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–12, дополнительно содержащая химерный антигенный рецептор (CAR).
14. Модифицированная иммунная клетка по п. 13, отличающаяся тем, что слитый белок дополнительно содержит сигнальный пептид.
15. Модифицированная иммунная клетка по п. 14, отличающаяся тем, что слитый белок содержит от N-конца к C-концу: сигнальный пептид, цитокин, линкер и цитокиновый рецептор.
16. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–15, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 10.
17. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–15, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 11b.
18. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–15, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на

80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 4a, таблицы 4b или таблицы 7.

19. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–15, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 5a или таблицы 5b.

20. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–15, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности сигнального пептида, выбранной из таблицы 8.

21. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 9–15, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности линкера, выбранной из таблицы 8.

22. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–21, отличающаяся тем, что сигнальный пептид представляет собой или содержит сигнальный пептид CD8a, IgG κ, PDGFR-β, интерферона типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферона типа II (IFN-γ), интерферона типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF, TGF-β, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6Rα, gp130, IL-12Rβ1, IL-12Rβ2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-Rα, CSF2-Rβ, IL-4Rα, IL-4Rα1, IL-2Rγс, IL-10R1, IL-10R2, IL-13Rα1, IL-18Rα, IL-18Rβ, CSF1-R, TGF-βR1 или TGF-βR2.

23. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–22, отличающаяся тем, что цитокин представляет собой или содержит провоспалительный цитокин.

24. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–22, отличающаяся тем, что цитокин представляет собой или содержит противовоспалительный цитокин.

25. Модифицированная иммунная клетка по п. 23, отличающаяся тем, что цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω,

IFN-ε или IFN-κ), интерферон типа II (IFN-γ), интерферон типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23 или GM-CSF.

26. Модифицированная иммунная клетка по п. 24, отличающаяся тем, что цитокин представляет собой или содержит IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF-β.

27. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–22, отличающаяся тем, что цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферон типа II (IFN-γ), интерферон типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF или TGF-β.

28. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–22, отличающаяся тем, что цитокиновый рецептор представляет собой или содержит рецептор провоспалительного цитокина.

29. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–22, отличающаяся тем, что цитокиновый рецептор представляет собой или содержит рецептор противовоспалительного цитокина.

30. Модифицированная иммунная клетка по п. 28, отличающаяся тем, что цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6Rα, gp130, IL-12Rβ1, IL-12Rβ2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-Rα или CSF2-Rβ.

31. Модифицированная иммунная клетка по п. 29, отличающаяся тем, что цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IL-4Rα, IL-4Rα1, IL-2Rγс, IL-10R1, IL-10R2, IL-13Rα1, IL-18Rα, IL-18Rβ, CSF1-R, TGF-βR1 или TGF-βR2.

32. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–31, отличающаяся тем, что цитокиновый рецептор представляет собой или содержит IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6Rα, gp130, IL-12Rβ1, IL-12Rβ2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-Rα, CSF2-Rβ, IL-4Rα, IL-4Rα1, IL-2Rγс, IL-10R1, IL-10R2, IL-13Rα1, IL-18Rα, IL-18Rβ, CSF1-R, TGF-βR1 или TGF-βR2.

33. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 1–32, отличающаяся тем, что линкер представляет собой или содержит линкер, выбранный из группы, состоящей из: линкера (G4S)_n, где n = 1–5 (SEQ ID NO: 170), линкера Уитлоу и линкера 26.
34. Модифицированная иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержащий интерлейкин 10 (IL-10), линкер и рецептор интерлейкина-10 (IL10R).
35. Модифицированная иммунная клетка, содержащая слитый белок, содержащий интерферон бета (IFN β), линкер и рецептор интерферона- α/β (IFNAR).
36. Модифицированная иммунная клетка по п. 34 или п. 35, отличающаяся тем, что слитый белок является мембраносвязанным.
37. Модифицированная иммунная клетка по п. 34 или п. 35, отличающаяся тем, что линкер представляет собой гибкий линкер.
38. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 34–37, отличающаяся тем, что линкер представляет собой расщепляемый линкер.
39. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 34–38, дополнительно содержащая химерный антигенный рецептор (CAR).
40. Фармацевтическая композиция, содержащая модифицированную иммунную клетку по любому из пп. 1–39,
41. Фармацевтическая композиция по п. 40, содержащая фармацевтически приемлемый носитель.
42. Конструкция нуклеиновой кислоты, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержащий цитокин и цитокиновый рецептор,
43. Конструкция нуклеиновой кислоты по п. 42, дополнительно содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих химерный антигенный рецептор (CAR).

44. Фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию нуклеиновой кислоты по п. 42 или п. 43.
45. Фармацевтическая композиция по п. 44, содержащая фармацевтически приемлемый носитель.
46. Способ лечения или предотвращения заболевания или нарушения у субъекта, включающий доставку субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 40, 41, 44 или 45.
47. Способ модификации иммунной клетки, включающий доставку в иммунную клетку конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих слитый белок, содержащий цитокин, линкер и цитокиновый рецептор.
48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что линкер представляет собой гибкий линкер.
49. Способ по п. 47 или п. 48, отличающийся тем, что линкер представляет собой расщепляемый линкер.
50. Способ по любому из пп. 47–49, отличающийся тем, что конструкция нуклеиновой кислоты дополнительно содержит одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих химерный антигенный рецептор (CAR).
51. Способ по любому из пп. 47–50, отличающийся тем, что доставка включает электропорацию или трансфекцию ДНК, мРНК или химически модифицированной мРНК.
52. Способ по любому из пп. 47–50, отличающийся тем, что доставка включает трансдукцию аденоассоциированным вирусным вектором (AAV), аденовирусным вектором или ретровирусным вектором.
53. Способ по п. 52, отличающийся тем, что ретровирусный вектор включает лентивирусный вектор или гамма-ретровирусный вектор.
54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что лентивирусный вектор упакован белком Vpx.

55. Способ по п. 52, отличающийся тем, что аденовирусный вектор включает вектор Ad2 и вектор Ad5.
56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что вектор Ad5 включает аденовирусный вектор Ad5f35.
57. Способ по любому из пп. 47–50, отличающийся тем, что доставка включает доставку на основе транспозона или направленную интеграцию на основе CRISPR.
58. Модифицированная иммунная клетка, содержащая экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR),
причем модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, и при этом
экзогенный цитокин представляет собой или содержит провоспалительный цитокин, противовоспалительный цитокин или хемоаттрактантный хемокин.
59. Модифицированная иммунная клетка по п. 58, отличающаяся тем, что экзогенный цитокин содержит сигнальный пептид.
60. Модифицированная иммунная клетка по п. 58 или п. 59, отличающаяся тем, что экзогенный цитокин содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 2a, таблицы 2b, таблицы 6 или таблицы 8.
61. Модифицированная иммунная клетка, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR),
причем модифицированная иммунная клетка представляет собой стволовую клетку, макрофаг, моноцит или дендритную клетку, и при этом
экзогенный цитокин представляет собой или содержит провоспалительный цитокин, противовоспалительный цитокин или хемоаттрактантный хемокин.
62. Модифицированная иммунная клетка по п. 61, отличающаяся тем, что экзогенный цитокин дополнительно содержит сигнальный пептид.

63. Модифицированная иммунная клетка по п. 61 или п. 62, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 4а, таблицы 4b, таблицы 7 или таблицы 11b.

64. Модифицированная иммунная клетка по п. 61 или п. 62, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот содержат последовательность по меньшей мере на 80 % идентичную последовательности, выбранной из таблицы 8.

65. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 61–64, отличающаяся тем, что одна или более нуклеиновых кислот кодируют сигнальный пептид.

66. Модифицированная иммунная клетка по п. 62 или п. 65, отличающаяся тем, что сигнальный пептид представляет собой или содержит сигнальный пептид CD8a, IgG κ, PDGFR-β, интерферона типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферона типа II (IFN-γ), интерферона типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF, TGF-β, IFNAR1, IFNAR2, IFNGR1, IFNGR2, IFNLR1, TNFR1, TNFR2, IL-1R1, IL-1R3, IL-6Rα, gp130, IL-12Rβ1, IL-12Rβ2, IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-23R, CSF2-Rα, CSF2-Rβ, IL-4Rα, IL-4Rα1, IL-2Rγс, IL-10R1, IL-10R2, IL-13Rα1, IL-18Rα, IL-18Rβ, CSF1-R, TGF-βR1 или TGF-βR2.

67. Модифицированная иммунная клетка по любому из пп. 58–66, отличающаяся тем, что экзогенный цитокин представляет собой или содержит интерферон типа I (IFN-α1, IFN-α2, IFN-α4, IFN-α5, IFN-α6, IFN-α7, IFN-α8, IFN-α10, IFN-α13, IFN-α14, IFN-α16, IFN-α17, IFN-α21, IFN-β, IFN-ω, IFN-ε или IFN-κ), интерферон типа II (IFN-γ), интерферон типа III (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3 или IFN-λ4), TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, GM-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-18, M-CSF, TGF-β, CCL19 или CXCL12.

68. Модифицированная иммунная клетка по п. 67, отличающаяся тем, что экзогенный цитокин представляет собой или содержит IFN-γ, IL-10, CCL19 или CXCL12.

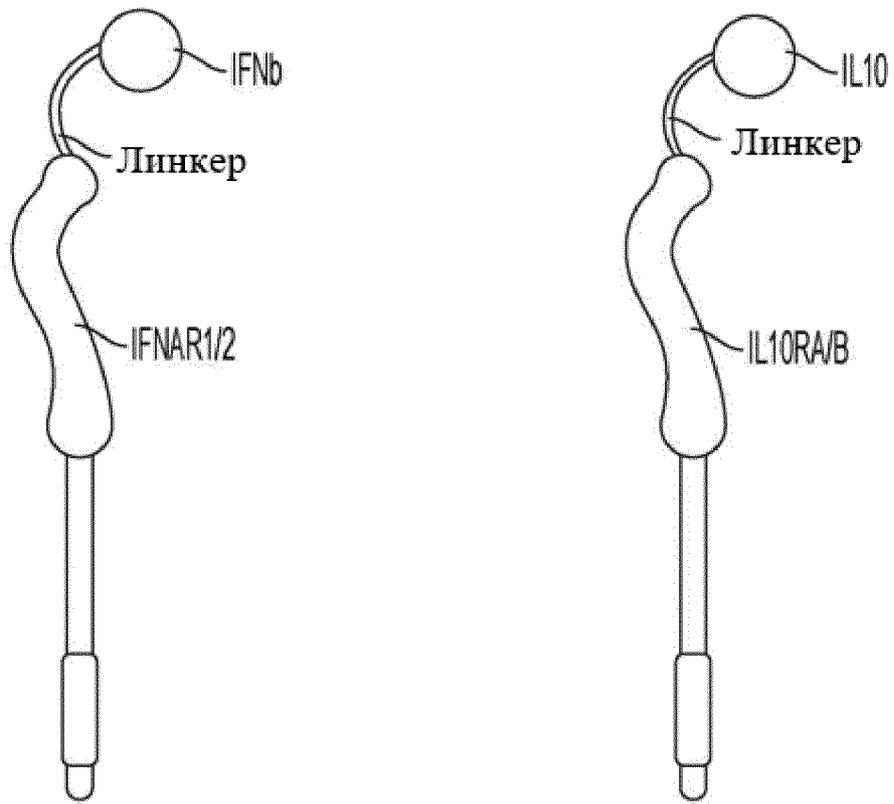
69. Фармацевтическая композиция, содержащая модифицированную иммунную клетку по любому из пп. 58–68,

70. Фармацевтическая композиция по п. 69, содержащая фармацевтически приемлемый носитель.
71. Конструкция нуклеиновой кислоты, содержащая одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR).
72. Фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию нуклеиновой кислоты по п. 71.
73. Фармацевтическая композиция по п. 72, содержащая фармацевтически приемлемый носитель.
74. Способ лечения или предотвращения заболевания или нарушения у субъекта, включающий доставку субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 69, 70, 72 или 73.
75. Способ модификации иммунной клетки, включающий доставку в иммунную клетку конструкции нуклеиновой кислоты, содержащей одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих экзогенный цитокин и химерный антигенный рецептор (CAR).
76. Способ по п. 75, отличающийся тем, что доставка включает электропорацию или трансфекцию ДНК, мРНК или химически модифицированной мРНК.
77. Способ по п. 75, отличающийся тем, что доставка включает трансдукцию аденоассоциированным вирусным вектором (AAV), аденовирусным вектором или ретровирусным вектором.
78. Способ по п. 77, отличающийся тем, что ретровирусный вектор включает лентивирусный вектор или гамма-ретровирусный вектор.
79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что лентивирусный вектор упакован белком Vpr.

80. Способ по п. 77, отличающийся тем, что аденовирусный вектор включает вектор Ad2 и вектор Ad5.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что вектор Ad5 включает аденовирусный вектор Ad5f35.

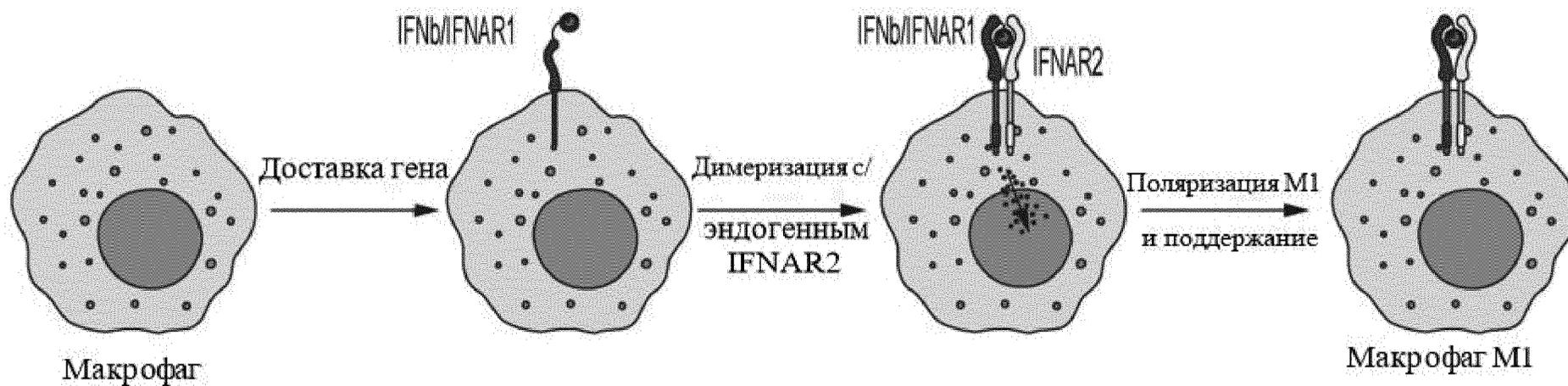
82. Способ по п. 50, отличающийся тем, что доставка включает доставку на основе транспозона или направленную интеграцию на основе CRISPR.



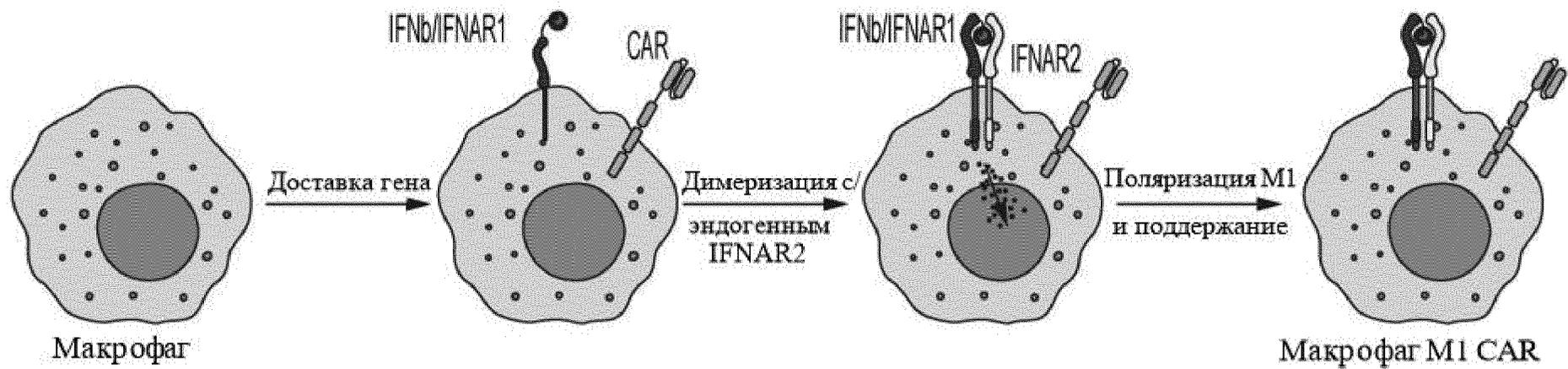
ФИГ. 1

Сигнальный пептид	IFNa	(GGGGS) _x (SEQ ID NO: 175)	IFNAR1
Сигнальный пептид	IFNa	(GGGGS) _x (SEQ ID NO: 175)	IFNAR2
Сигнальный пептид	IFNb	(GGGGS) _x (SEQ ID NO: 175)	IFNAR1
Сигнальный пептид	IFNb	(GGGGS) _x (SEQ ID NO: 175)	IFNAR2
Сигнальный пептид	IFNg	(GGGGS) _x (SEQ ID NO: 175)	IFNGR1
Сигнальный пептид	IFNg	(GGGGS) _x (SEQ ID NO: 175)	IFNGR2

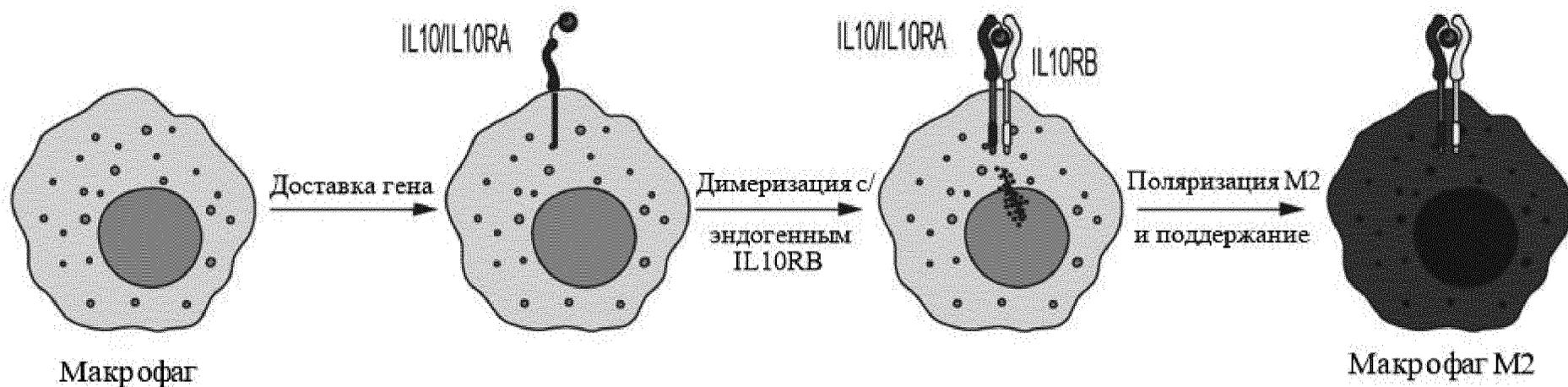
Фиг. 2



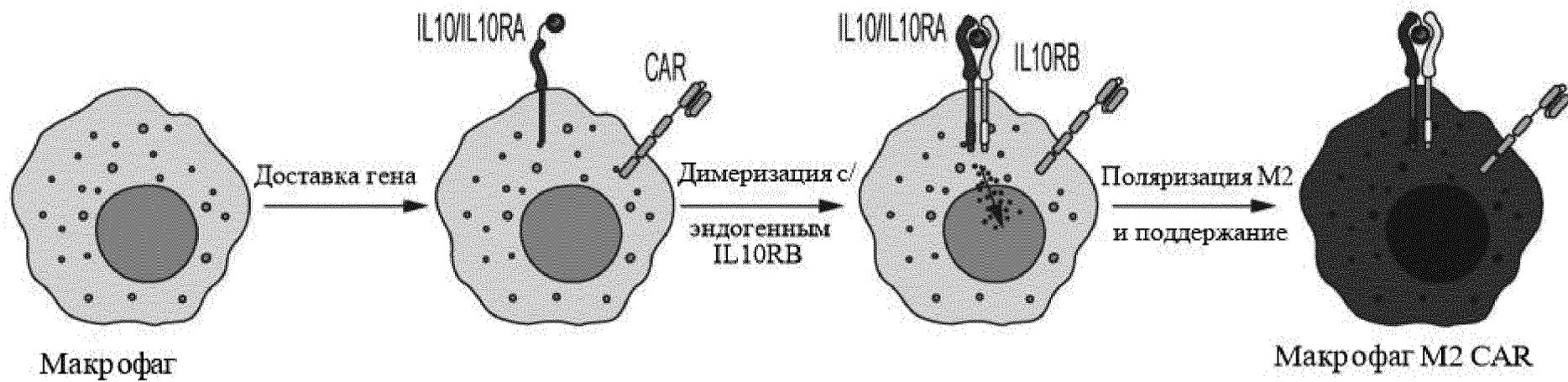
Фиг. 3А



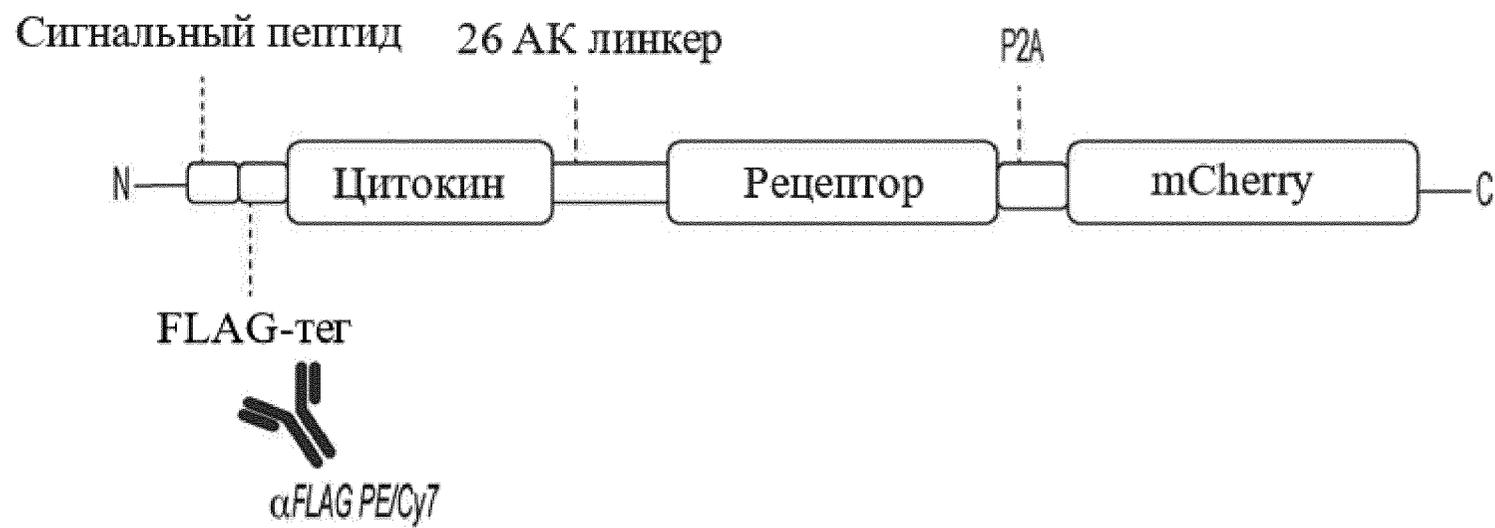
Фиг. 3В



Фиг. 4А



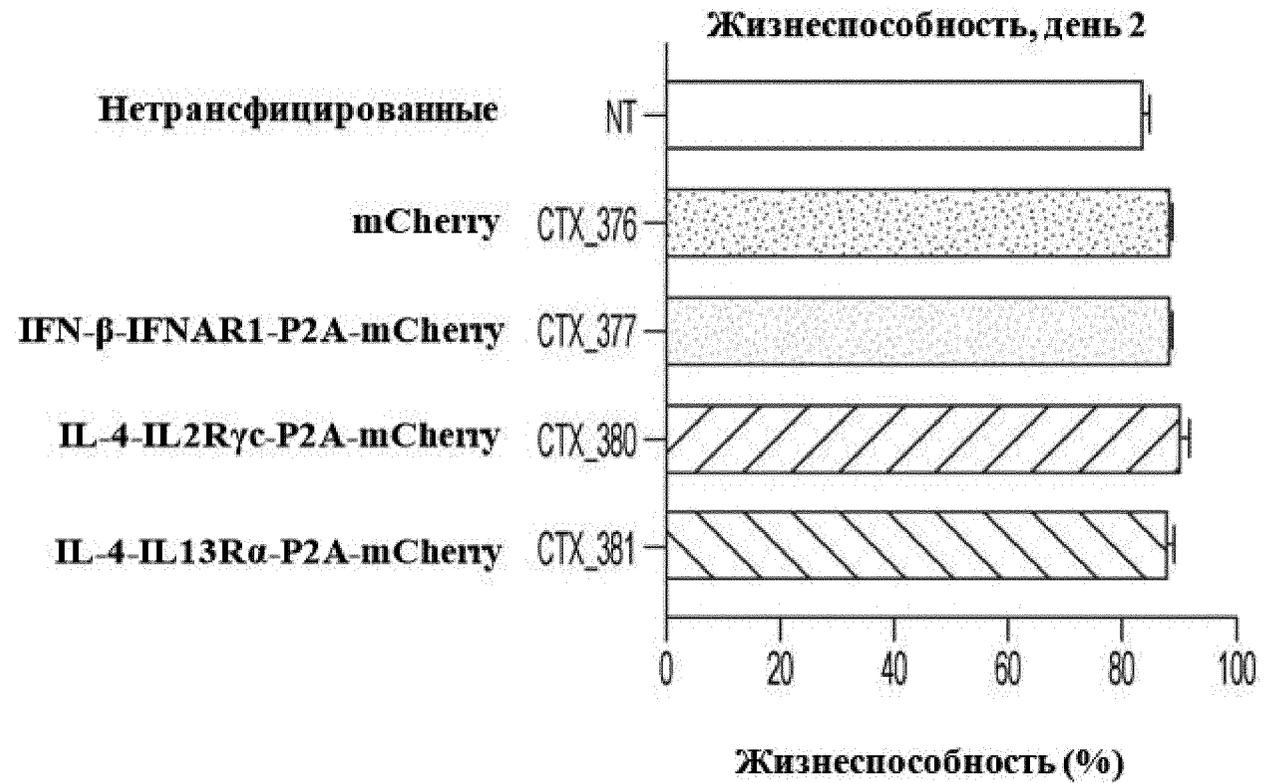
Фиг. 4В



Фиг. 5А

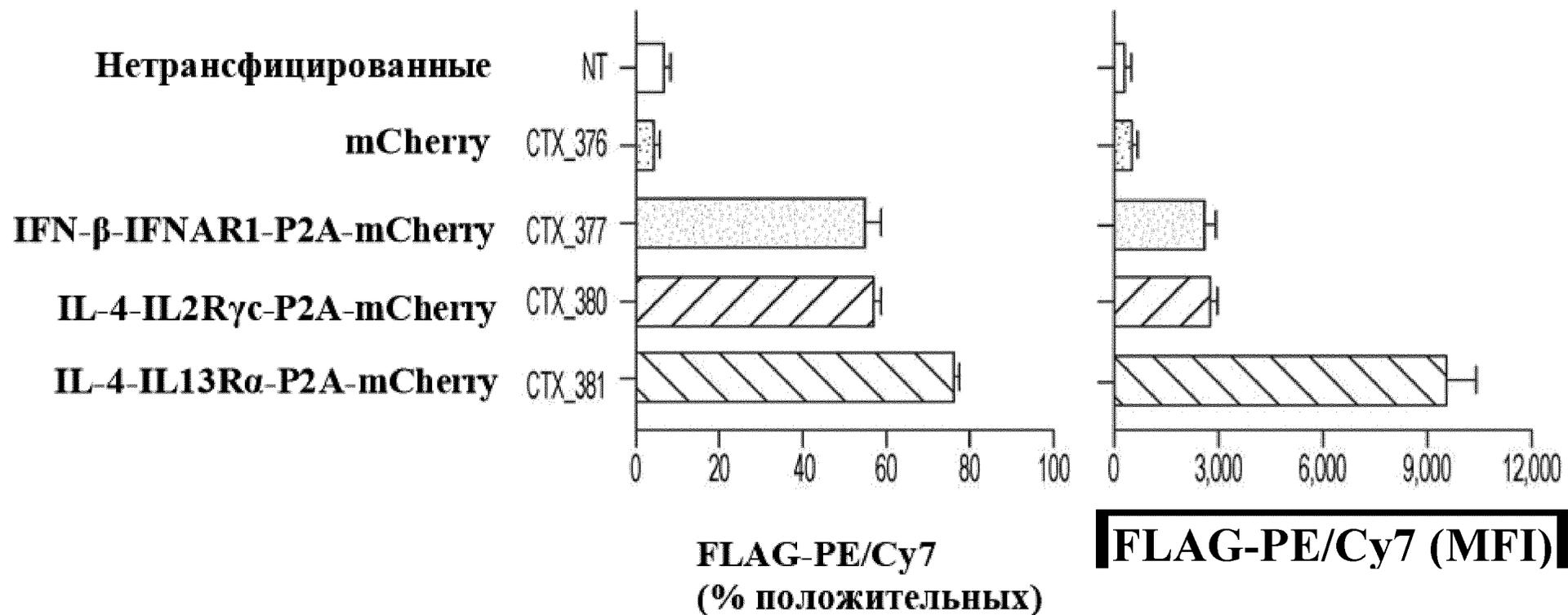


Фиг. 5В

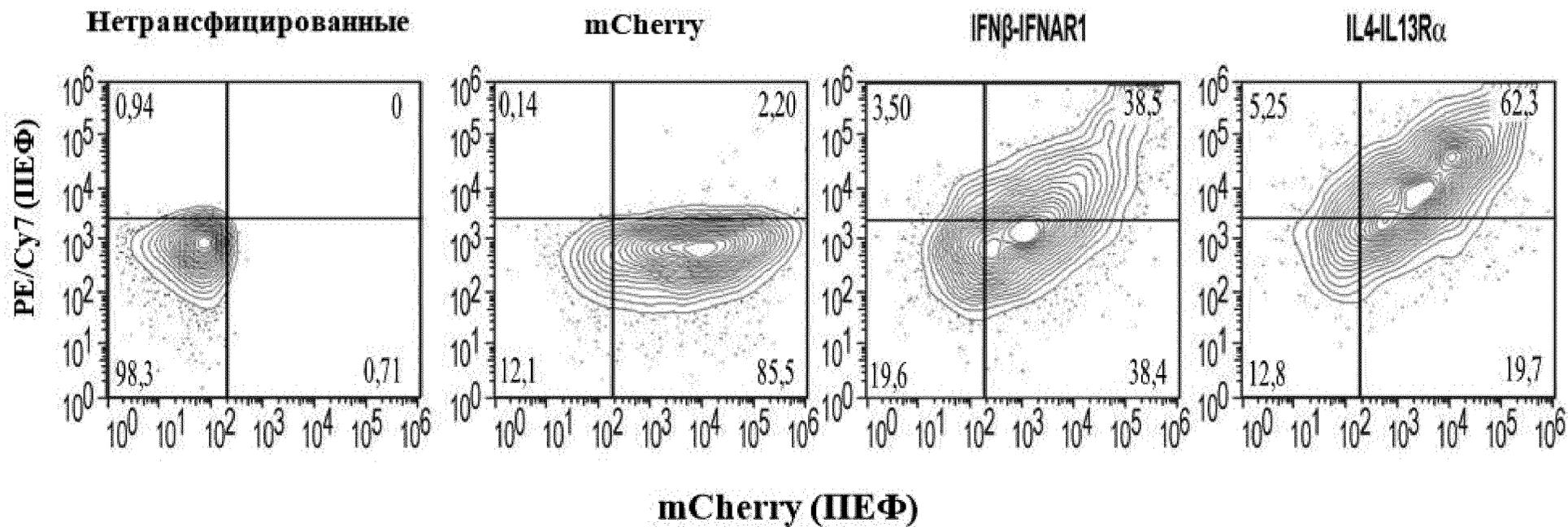


Фиг. 6А

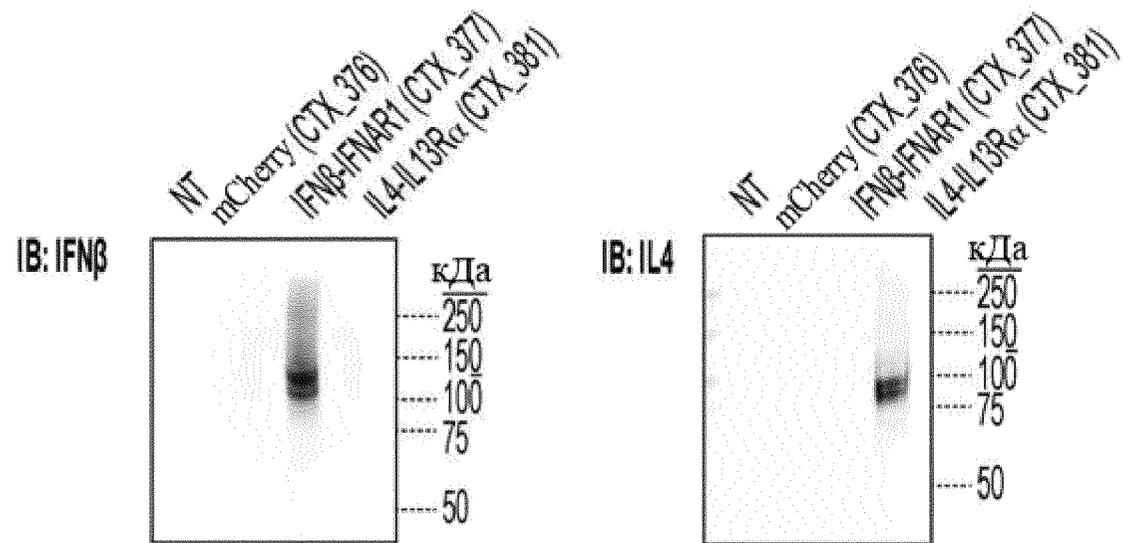
Поверхностная экспрессия конструкции



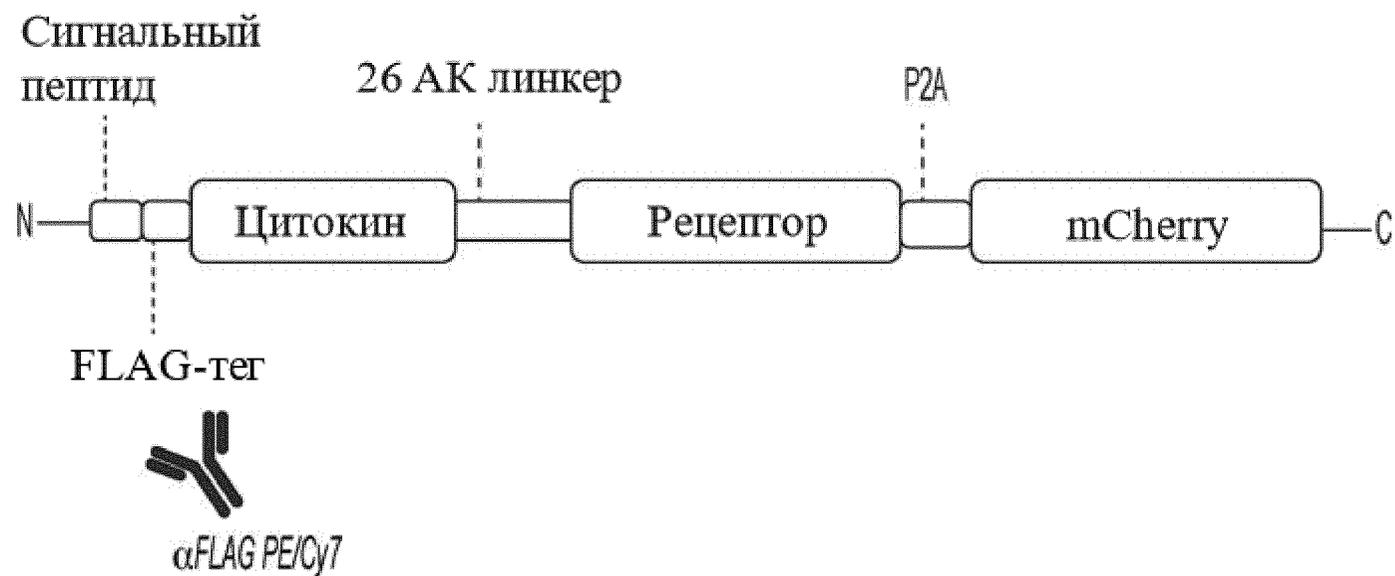
Фиг. 6В



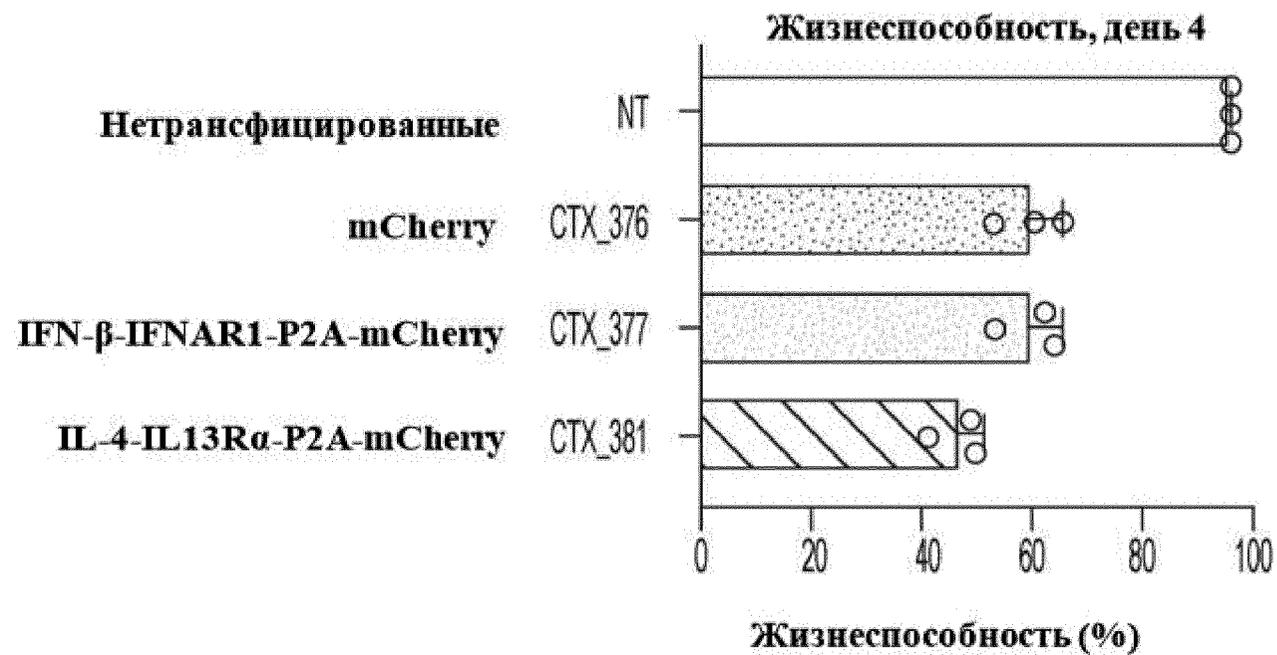
Фиг. 7



Фиг. 8

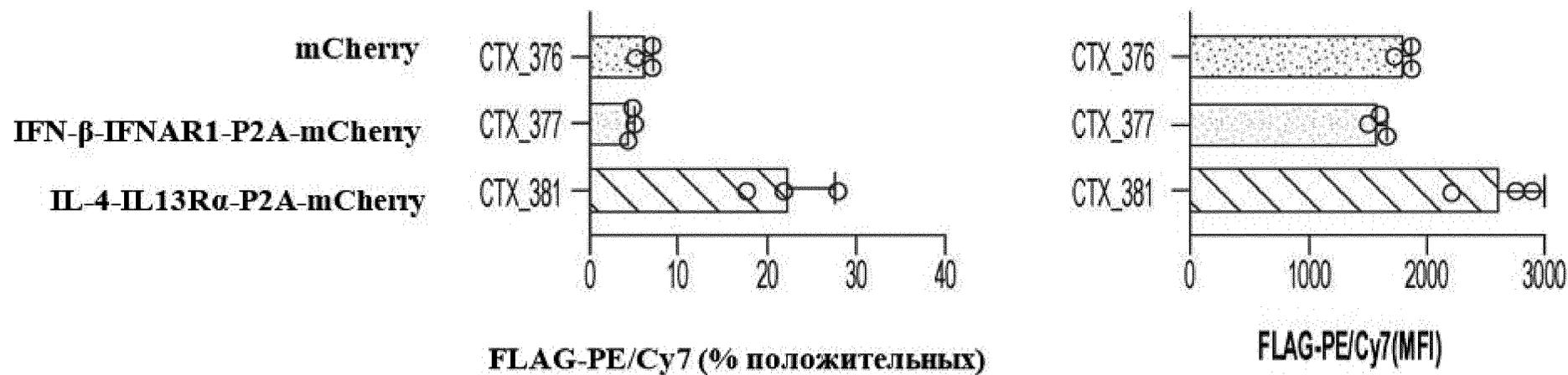


Фиг. 9



Фиг. 10А

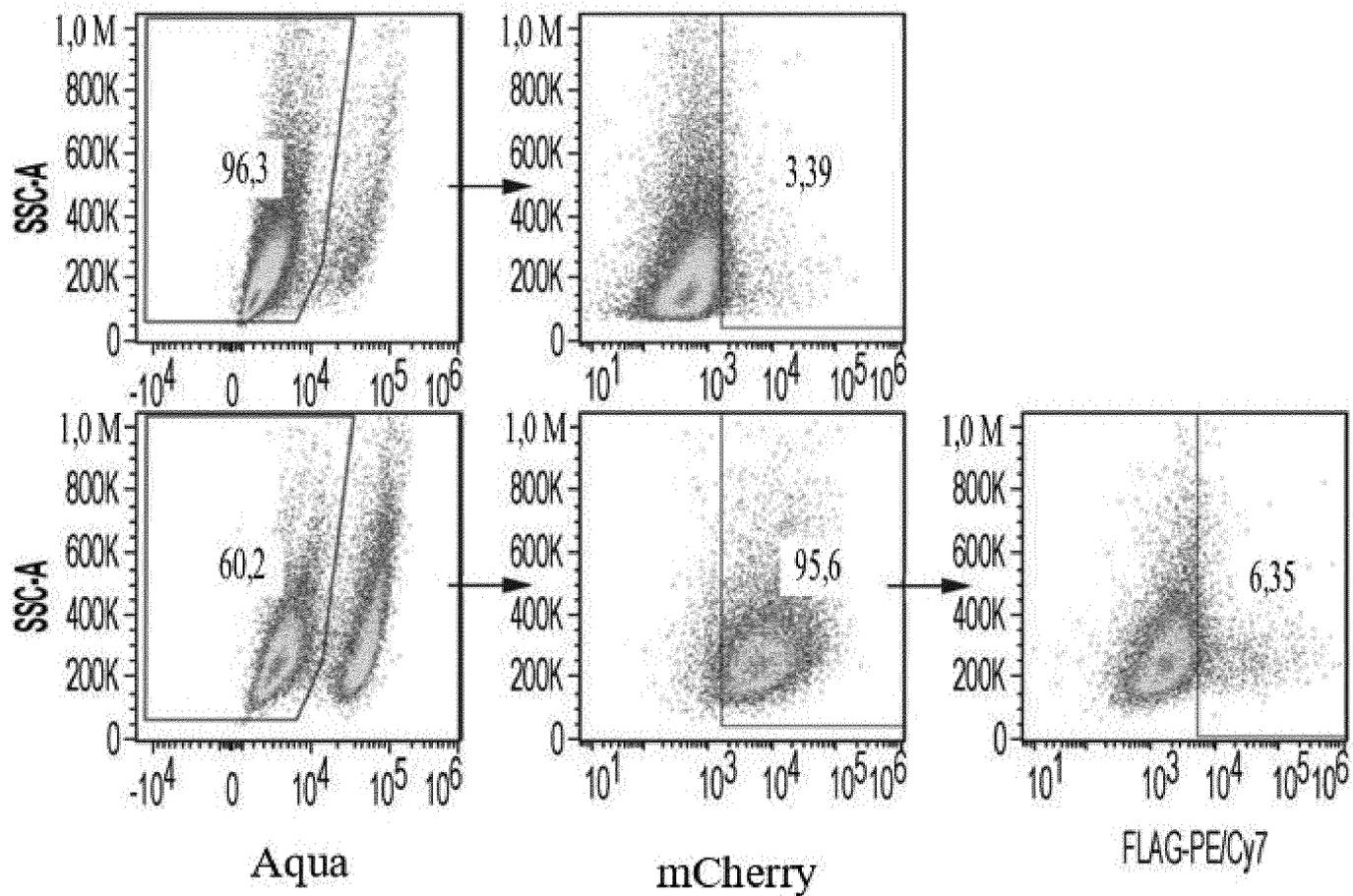
Поверхностная экспрессия конструкции (КЗ 10)



Фиг. 10В

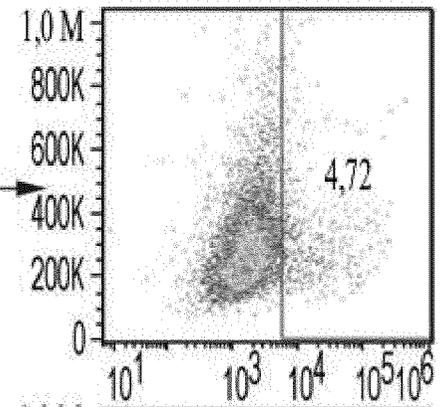
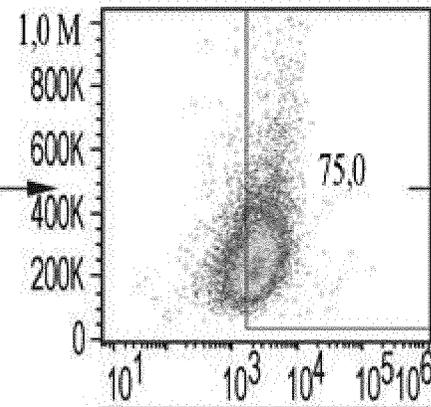
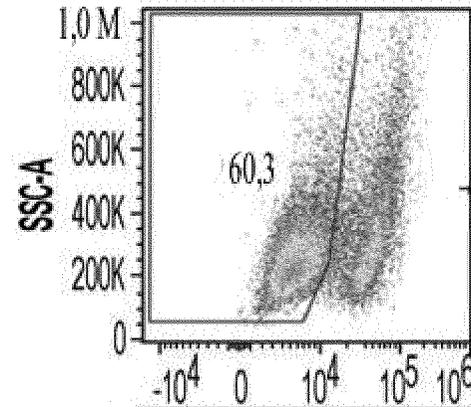
(пустой)-P2A-mCherry
CTX_376

Б/О

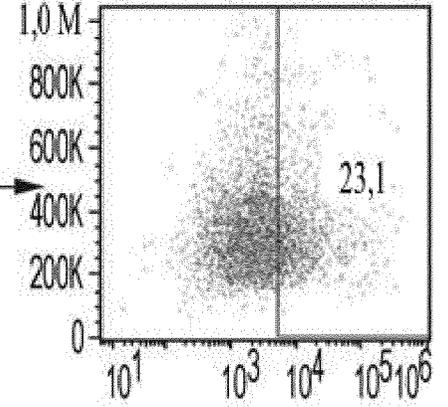
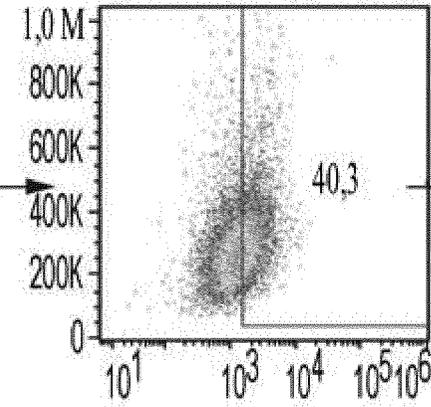
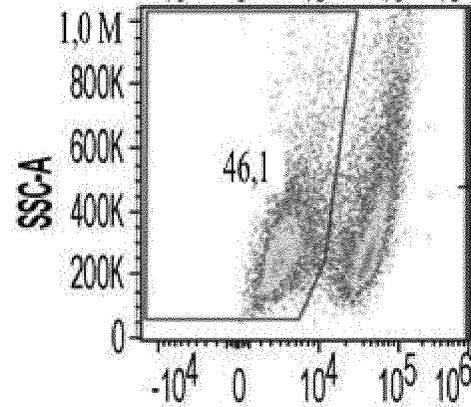


ФИГ. 11А

IFN β -IFNAR1-P2A-mCherry
CTX_377



IL4-IL13R α -P2A-mCherry
CTX_381



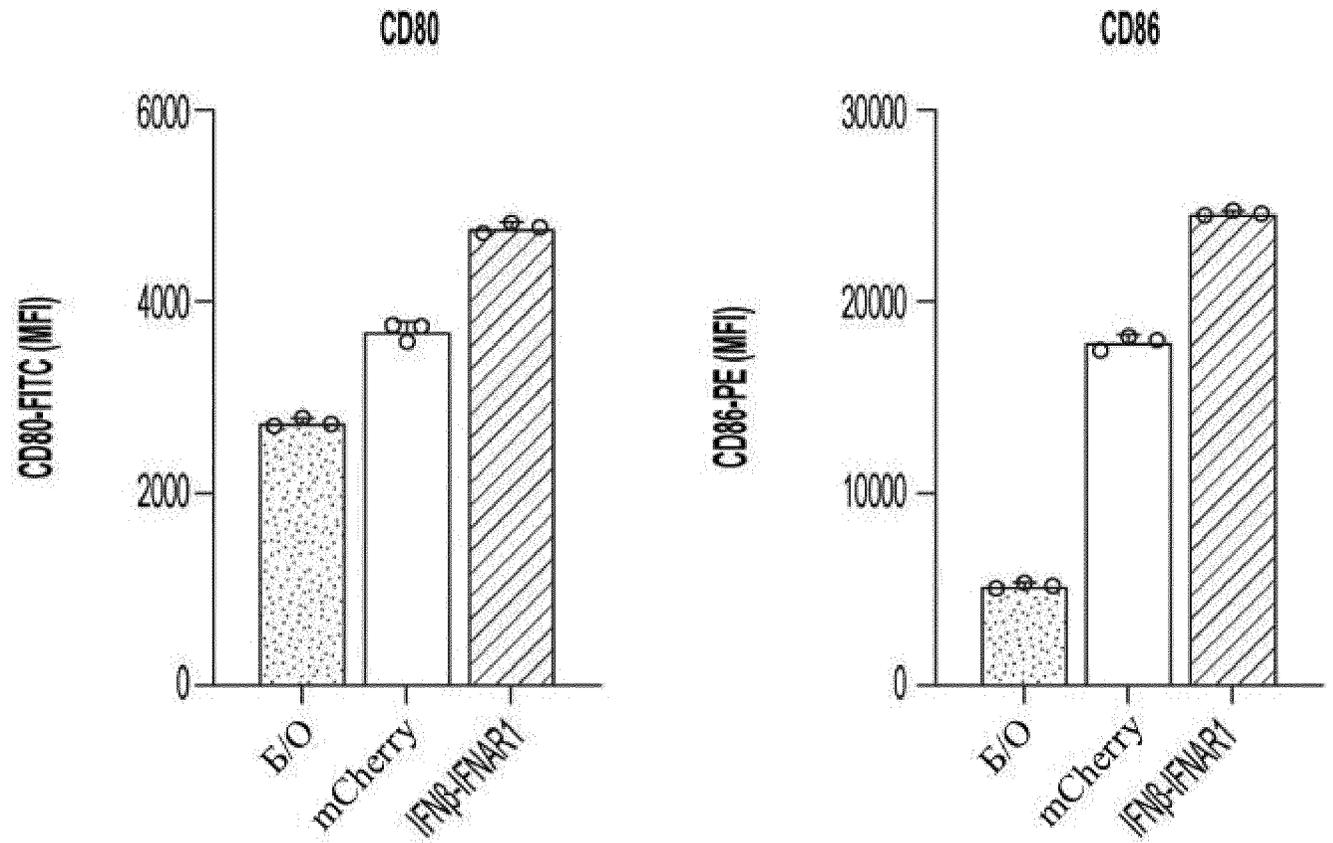
Aqua

mCherry

FLAG-PE/Cy7

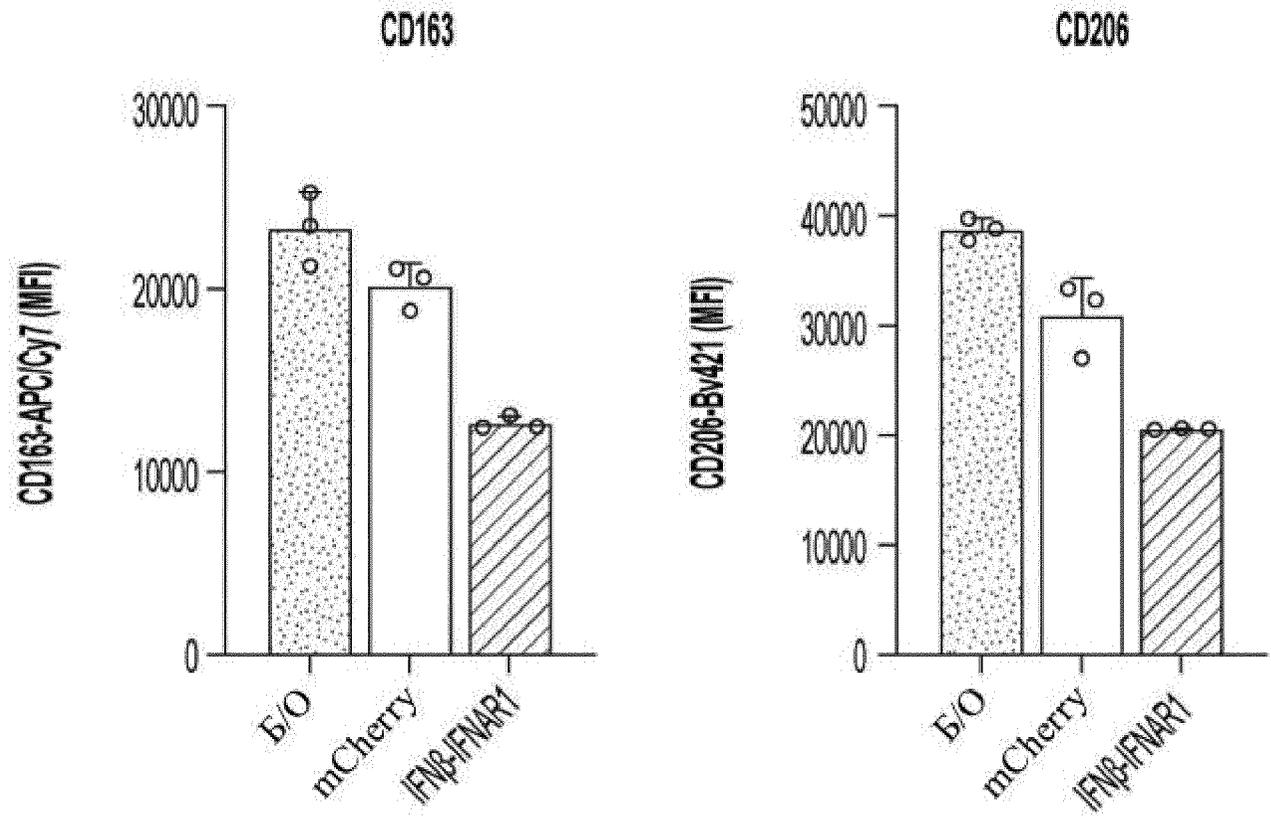
Фиг. 11В

Маркеры МП

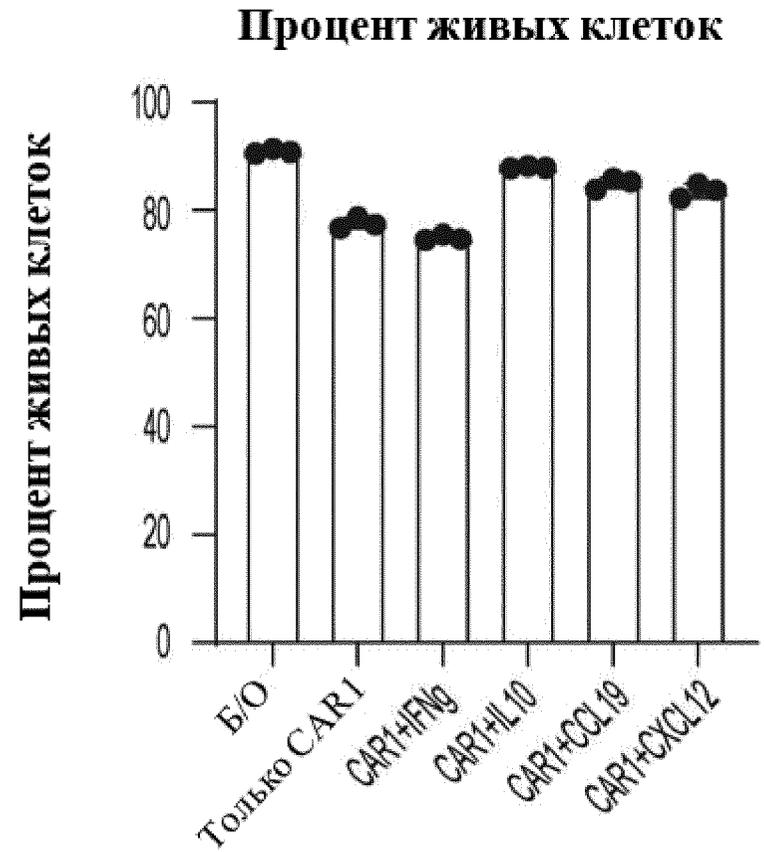


Фиг. 12А

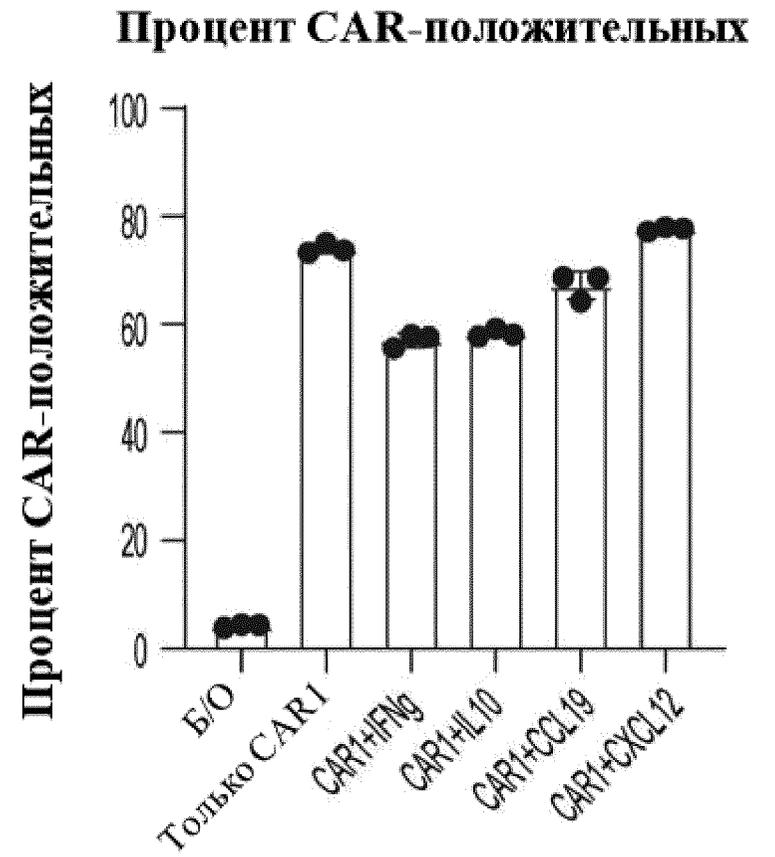
Маркеры M2



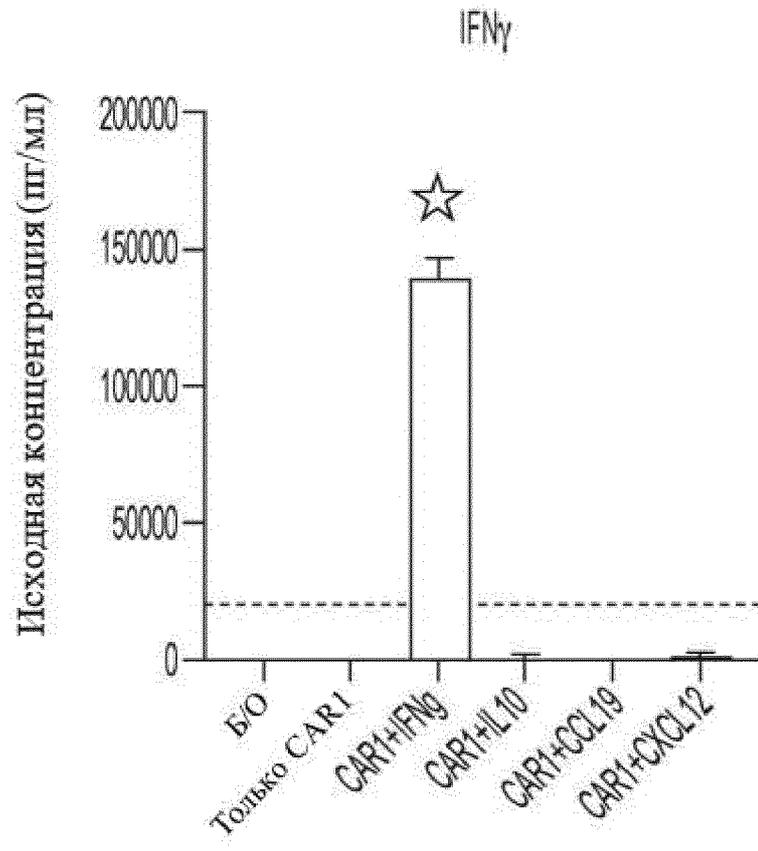
Фиг. 12В



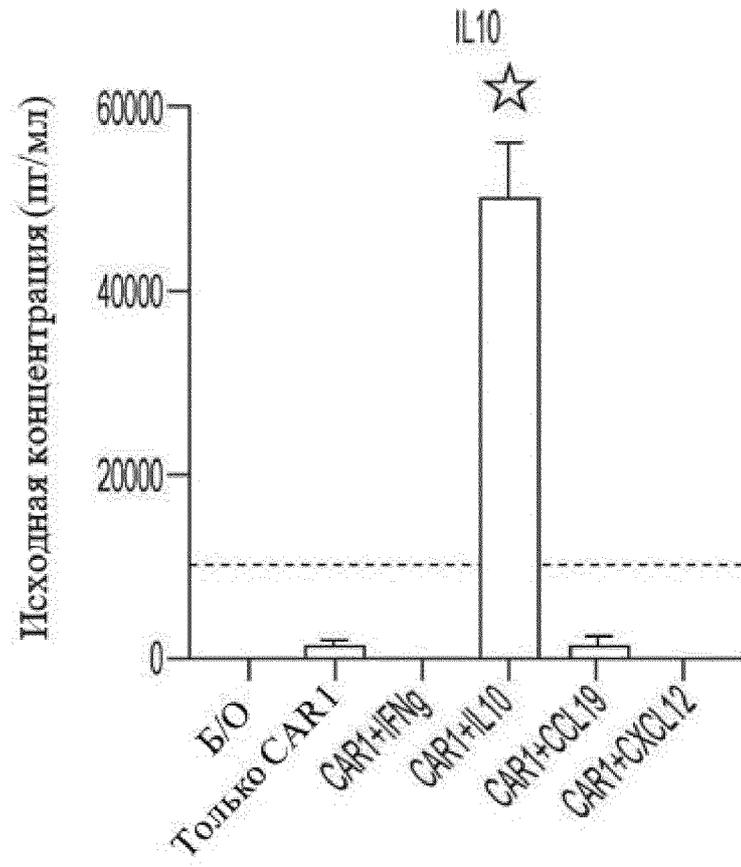
Фиг. 13



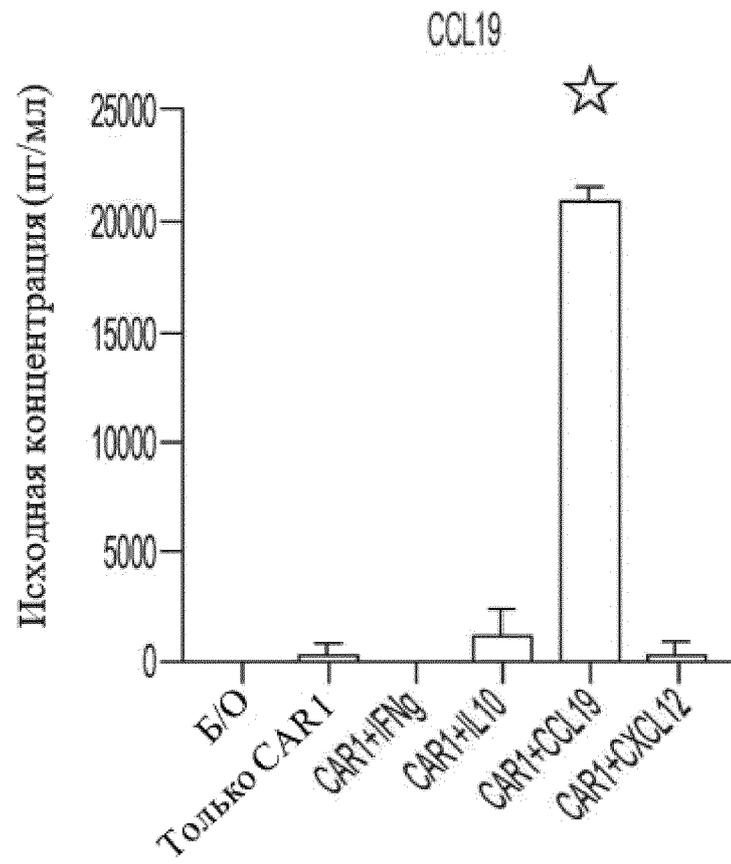
Фиг. 14



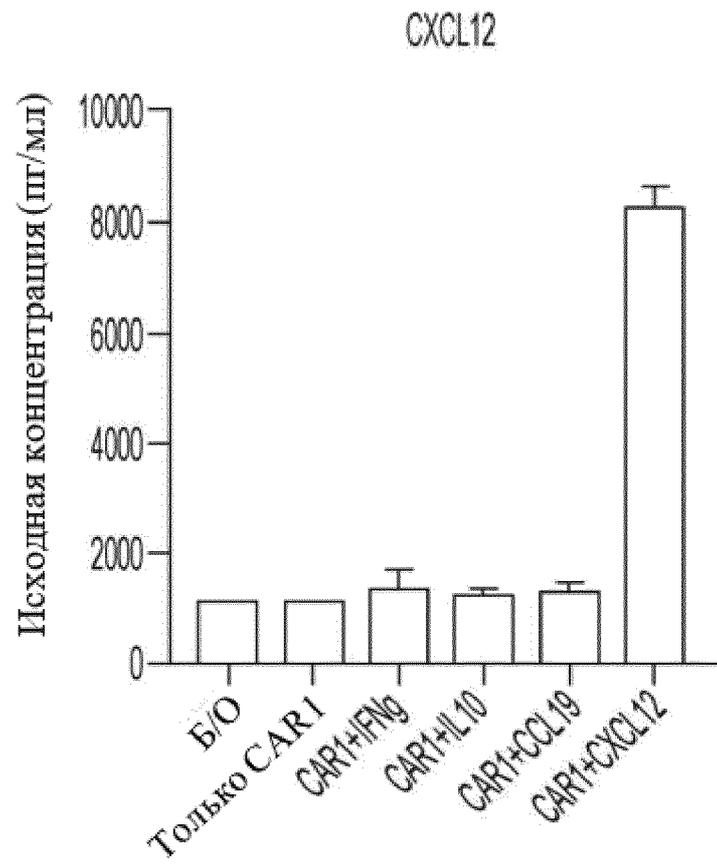
Фиг. 15



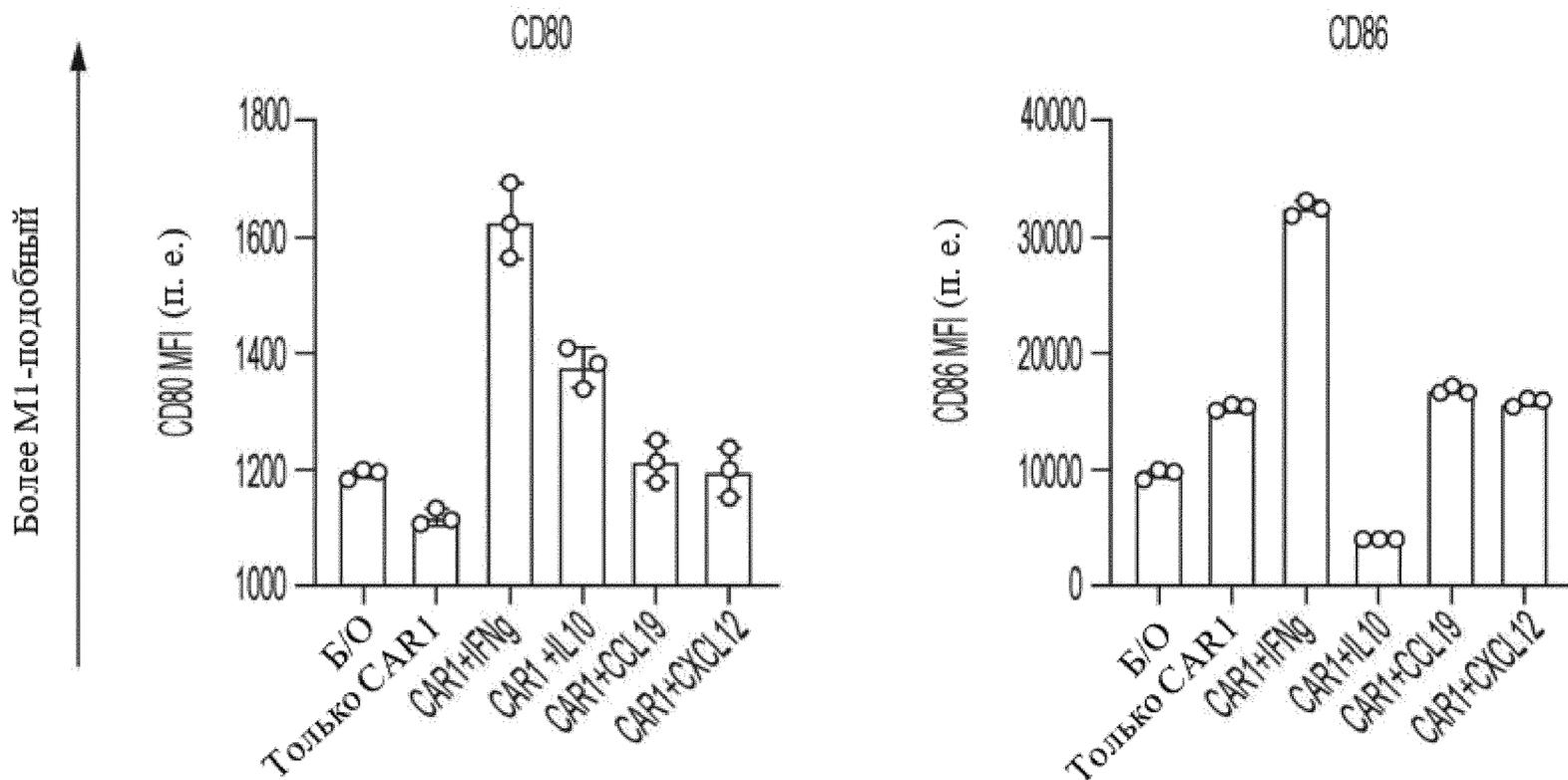
Фиг. 16



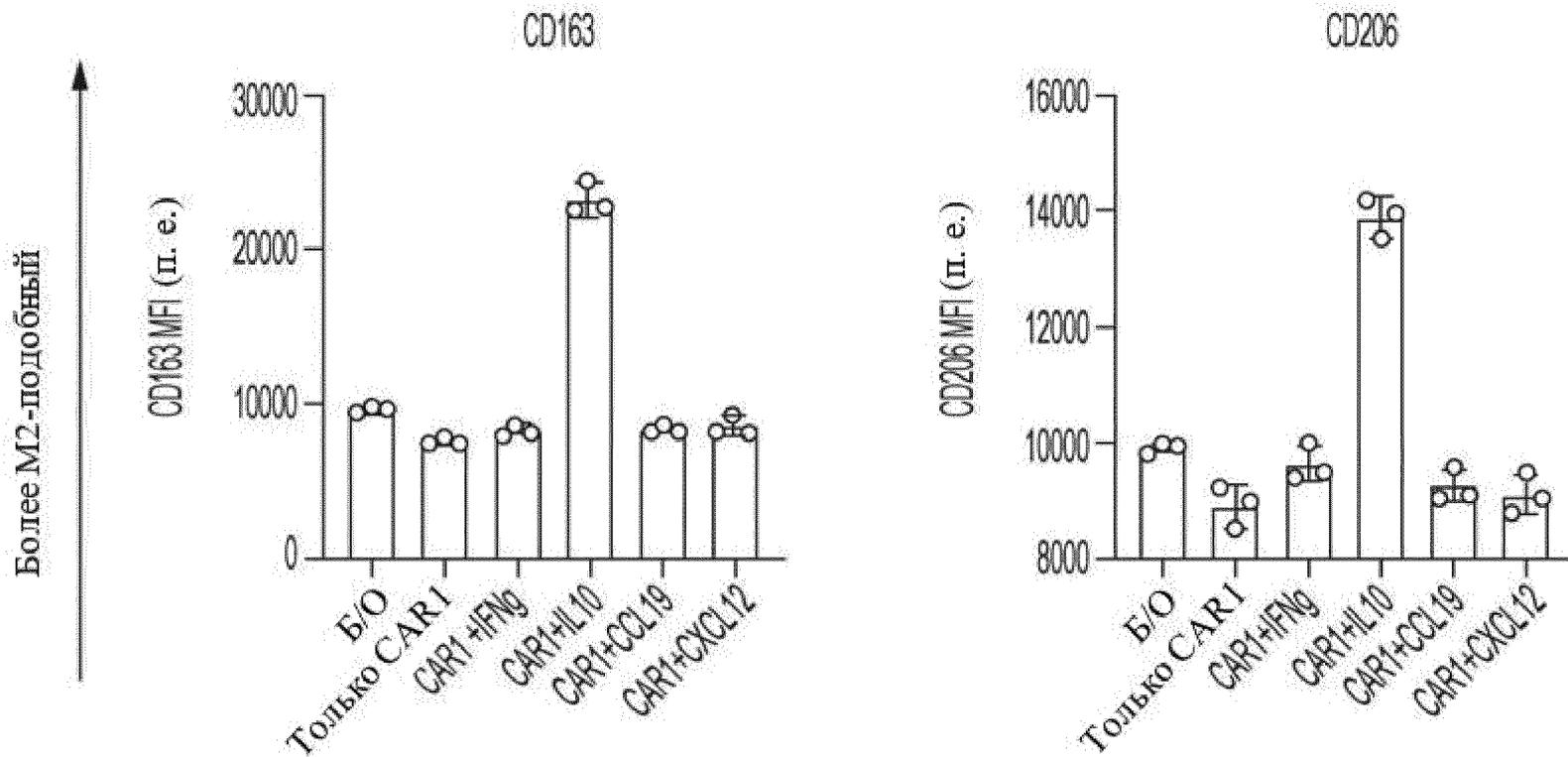
Фиг. 17



Фиг. 18



Фиг. 19



Фиг. 20