

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490327** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.05.23

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.07.28

(54) **ИММУННЫЕ КЛЕТКИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ CAR, СПЕЦИАЛЬНО
НАПРАВЛЕННЫЕ НА МЕЗОТЕЛИН, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) 63/227,115; 63/306,862

(32) 2021.07.29; 2022.02.04

(33) US

(86) PCT/US2022/038640

(87) WO 2023/009700 2023.02.02

(88) 2023.04.13

(71) Заявитель:

**ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)**

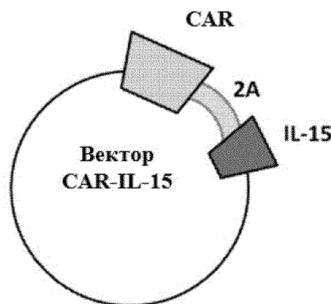
(72) Изобретатель:

**Шапиро Гари (US), Таке Тихиро,
Кассаи Йосиаки (JP), Хэ Синюэ, Кун
Шанталь (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В настоящем документе описаны сконструированные иммунные клетки, которые специфически распознают мезотелин и экспрессируют IL-15 и, необязательно, CCL19. В настоящем документе также раскрыты выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин, и внутриклеточную область 4-1BB; и полинуклеотид, кодирующий IL-15; и, необязательно, полинуклеотид, кодирующий CCL19, векторы, фармацевтические композиции, содержащие молекулы нуклеиновой кислоты, и способы применения сконструированных иммунных клеток.



202490327
A1

202490327
A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580263EA/032

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ CAR, СПЕЦИАЛЬНО НАПРАВЛЕННЫЕ НА МЕЗОТЕЛИН, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] Данная заявка испрашивает приоритет в соответствии с разделом 35 USC § 119(e) предварительной заявки США № 63/306862, поданной 4 февраля 2022 г., и предварительной заявки США № 63/227115, поданной 29 июля 2021 г., которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[2] Данное изобретение относится к иммунной клетке, которая экспрессирует молекулу клеточной поверхности, специфически распознающую мезотелин человека, интерлейкин 15 (IL-15) и, необязательно, хемокин (мотив C-C) лиганд 19 (CCL19), фармацевтической композиции, содержащей иммунную клетку, вектор экспрессии, содержащий полинуклеотид, кодирующий молекулу клеточной поверхности, специфически распознающую мезотелин, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19, способу применения и способу получения иммунной клетки, которая экспрессирует молекулу клеточной поверхности, специфически распознающую мезотелин человека, IL-15 и, необязательно, CCL19, включающий введение полинуклеотида, кодирующего молекулу клеточной поверхности, специфически распознающую мезотелин человека, полинуклеотида, кодирующего IL-15, и необязательно полинуклеотида, кодирующего CCL19, в иммунную клетку.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[3] Злокачественные опухоли представляет собой заболевания, которые поражают многих людей в мире и, как правило, часто лечатся с помощью химиотерапии, лучевой терапии или хирургического лечения. Однако возникали различные проблемы, такие как возникновение побочных реакций, потеря некоторых функций, а также рецидивы или метастазы, которые не поддаются лечению. Таким образом, в последние годы развитие иммуноклеточной терапии продвинулось вперед с целью поддержания более высокого качества жизни (КЖ) пациентов. Иммуноклеточная терапия включает сбор иммунных клеток у пациента, выполнение процедур по усилению иммунных функций собранных иммунных клеток, амплификацию клеток и повторное введение клеток обратно пациенту. Например, иммуноклеточная терапия может включать сбор Т-клеток у пациента, введение нуклеиновой кислоты, кодирующей химерный антигенный рецептор (конститутивный рецептор андростана: в дальнейшем также называемый «CAR»), в Т-клетки и повторное введение Т-клеток обратно пациенту. Хотя при терапии CAR-T наблюдались ранние успехи в лечении рака крови; также наблюдались опасные для жизни токсичности и существенная неэффективность лечения солидных опухолей. Таким образом, необходимы улучшенные способы лечения CAR-T.

ДОКУМЕНТЫ УРОВНЯ ТЕХНИКИ

Патентные документы

[4] Патентный документ 1: WO2020/045610

[5] Патентный документ 2: US2020/0101142

[6] Патентный документ 3: WO2013/063419

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[7] Целевая техническая проблема, решаемая с помощью данного изобретения

[8] Существует ряд проблем, связанных с иммунотерапией Т-клетками, таких как недостаточная доставка к солидным опухолям, высокая токсичность для нормальных тканей, неспособность преодолеть иммуносупрессивное микроокружение опухоли и недостаточная активация эндогенного иммунного ответа. Кроме того, было показано, что иммунные клетки, модифицированные для экспрессии CAR, специфически распознающих мезотелин, демонстрируют минимальную терапевтическую эффективность. Таким образом, объективная техническая проблема, которую необходимо решить, состоит в том, чтобы обеспечить оптимизированные модифицированные иммунные клетки для борьбы с раком, экспрессирующим мезотелин.

[9] Средства решения объективной технической проблемы

[10] Авторы данного изобретения обнаружили, что иммунные клетки, модифицированные для экспрессии CAR, который специфически распознает мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19, могут повысить терапевтическую эффективность иммунотерапии и повысить выживаемость.

[11] Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, содержащая первый полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, специфически распознающее мезотелин человека, и внутриклеточную область 4-1BB, и второй полинуклеотид, кодирующий интерлейкин 15 (IL-15). В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содержит шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8 и внутриклеточную область CD3 ζ . В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, кодирующий CAR, и второй полинуклеотид, кодирующий IL-15. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит третий полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых вариантах осуществления IL-15 представляет собой IL-15 человека. В некоторых вариантах осуществления CCL19 представляет собой CCL19 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит три определяющие комплементарность области (CDR), содержащие SEQ ID NO: 16-18, и при этом VL содержит три CDR, содержащие SEQ ID NO: 19-21. В некоторых вариантах осуществления VH содержит SEQ ID NO: 22 и VL содержит SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит формат одноцепочечного переменного фрагмента (scFv). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит SEQ

ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB находится выше внутриклеточной области CD3 ζ в выделенной молекуле нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область CD8 содержит SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содержит пептидный линкер длиной от 3 до 10 аминокислотных остатков, связывающий антитело и шарнирную область CD8. В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления молекула CAR дополнительно содержит сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид расположен выше антитела, которое специфически распознает мезотелин человека в выделенной молекуле нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления каждый из второго полинуклеотида, кодирующего IL-15, и, необязательно, третьего полинуклеотида, кодирующего CCL19, независимо транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий саморасщепляющийся пептид 2A (пептид 2A). В некоторых вариантах осуществления пептид 2A содержит SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах осуществления IL-15 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8-11. В некоторых вариантах осуществления IL-15 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 28 или 29. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления первый полинуклеотид, кодирующий CAR, и второй полинуклеотид, кодирующий IL-15, расположены в молекуле нуклеиновой кислоты от 5'-конца до 3'-конца в качестве первого полинуклеотида, кодирующего CAR, и второго полинуклеотида, кодирующего IL-15. В некоторых вариантах осуществления первый полинуклеотид, кодирующий CAR, второй полинуклеотид, кодирующий IL-15, и третий полинуклеотид, кодирующий CCL19, расположены в молекуле нуклеиновой кислоты от 5'-конца к 3'-концу в качестве первого полинуклеотида, кодирующего CAR, и второго полинуклеотида, кодирующего IL-15, и третьего полинуклеотида, кодирующего CCL19. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 14 или 31. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, 35, 36 или 15. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 37, 38, 39 или 40.

[12] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыт вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, описанную в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор, необязательно вектор экспрессии. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор выбран из ретровирусного вектора, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора и вектора аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах

осуществления вирусный вектор представляет собой вектор pSFG, вектор pMSGV или вектор pMSCV. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой плазмиду.

[13] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта иммунная клетка, содержащая описанную в данном документе молекулу нуклеиновой кислоты или описанный в данном документе вектор. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка дополнительно содержит полинуклеотид, кодирующий гамма-TCR (γ TCR), и полинуклеотид, кодирующий дельта-TCR (δ TCR). В некоторых вариантах осуществления γ TCR представляет собой V гамма 9 TCR ($V\gamma 9$ TCR), и δ TCR представляет собой V дельта 2 TCR ($V\delta 2$ TCR).

[14] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыта иммунная клетка, экспрессирующая: а) химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8, внутриклеточную область 4-1BB и внутриклеточную область CD3 ζ ; и б) IL-15; и с) необязательно CCL19. В некоторых вариантах осуществления, иммунная клетка представляет собой Т-клетку, естественную клетку-киллер (NK), В-клетку, антигенпрезентирующую клетку или гранулоцит, необязательно Т-клетку или NK-клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка получена из индуцированной плюрипотентной стволовой клетки (iPSC). В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка не экспрессирует альфа-TCR (α TCR) и/или бета-TCR (β TCR), необязательно $\alpha\beta$ TCR. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка экспрессирует $\gamma\delta$ TCR. В некоторых вариантах осуществления $\gamma\delta$ TCR содержит $V\gamma 9$ TCR и $V\delta 2$ TCR.

[15] В некоторых вариантах осуществления в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая описанную в данном документе иммунную клетку и фармацевтически приемлемую добавку.

[16] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыт способ лечения рака, экспрессирующего мезотелин, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, описанной в данном документе иммунной клетки или фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой солидную опухоль, необязательно выбранную из мезотелиомы, колоректального рака, рака поджелудочной железы, рака тимуса, рака желчных протоков, рака легких, рака кожи, рака молочной железы, рака простаты, рака мочевого пузыря, виргинального рака, рака шеи, рака матки, рака печени, рака почки, рака селезенки, рака трахеи, рака бронхов, рака желудка, рака пищевода, рака желчного пузыря, рака яичек, рака яичников и рака костей. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой гемопозитический рак. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой саркому, необязательно выбранную из хондросаркомы, саркомы Юинга, злокачественной гемангиоэндотелиомы,

злокачественной шванномы, остеосаркомы и саркомы мягких тканей. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой метастатический рак. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой рецидивирующий рак или рефрактерный рак. В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает введение субъекту дополнительного терапевтического агента или дополнительной терапевтической схемы. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент включает химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент, таргетную терапию, лучевую терапию или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический режим включает терапию первой линии. В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический режим включает хирургическое вмешательство. В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию и дополнительный терапевтический агент вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию и дополнительный терапевтический агент вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию вводят субъекту до введения дополнительного терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию вводят субъекту после введения дополнительного терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек.

[17] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыт способ уменьшения пролиферации опухолевых клеток, включающий приведение опухолевой клетки в контакт с описанной выше иммунной клеткой, тем самым уменьшая пролиферацию опухолевых клеток. В некоторых вариантах осуществления способ представляет собой способ *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления способ представляет собой способ *in vivo*.

[18] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыт способ получения иммунных клеток, экспрессирующих молекулы клеточной поверхности, которые специфически распознают мезотелин человека, IL-15 и, необязательно, CCL19, причем способ включает: введение молекулы нуклеиновой кислоты, описанной выше, или вектора, описанного выше, в иммунную клетку, чтобы индуцировать экспрессию молекул клеточной поверхности, которые специфически распознают мезотелин человека, IL-15 и, необязательно, CCL19 иммунной клеткой. В некоторых вариантах осуществления, иммунная клетка представляет собой Т-клетку, естественную клетку-киллер (NK), В-клетку, антигенпрезентирующую клетку или гранулоцит, необязательно Т-клетку или NK-клетку.

[19] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыт набор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, описанную выше; вектор, описанный выше, иммунную клетку, описанную выше, или фармацевтическую композицию, описанную выше, и инструкции по применению.

[20] Эффект данного изобретения

[21] Иммунная клетка по настоящему изобретению обладает цитотоксической активностью против раковых клеток, экспрессирующих мезотелин (например, мезотелин человека), и способна подавлять образование опухоли, экспрессирующей мезотелин (например, мезотелин человека). Кроме того, иммунная клетка по настоящему изобретению оказывает подавляющее действие на рецидив раковых клеток.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[22] На ФИГ. 1А показано мультипликационное изображение типового вектора, содержащего полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически распознает мезотелин, и полинуклеотид, кодирующий IL-15.

[23] На ФИГ. 1В показано мультипликационное изображение типового вектора, содержащего полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически распознает мезотелин, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19.

[24] На ФИГ. 1С показано мультяшное изображение модифицированной иммунной клетки, экспрессирующей CAR, которая специфически распознает мезотелин и IL-15.

[25] На ФИГ. 1D показано мультипликационное изображение модифицированной иммунной клетки, экспрессирующей CAR, которая специфически распознает мезотелин, IL-15 и CCL19.

[26] На ФИГ. 2 показаны результаты, полученные при окрашивании полученных клеток с использованием набора антител (V δ 1 Miltenyi FITC, V δ 2 Miltenyi APC, $\gamma\delta$ TCR BD BV510, CD3 BioLegend APC/Cy7 и $\alpha\beta$ TCR eBioscience FITC). Закрашенные пики показывают результаты для неокрашенной группы, а пустые пики показывают результаты окрашивания с использованием каждого антигенспецифического антитела.

[27] На ФИГ. 3 показаны результаты проточной цитометрии, полученные путем окрашивания полученных клеток с использованием набора антител (V δ 1 Miltenyi FITC, V δ 2 Miltenyi APC, $\gamma\delta$ TCR BD BV510, CD3 BioLegend APC/Cy7 и $\alpha\beta$ TCR eBioscience FITC).

[28] На ФИГ. 4 показаны результаты измерения клеточной пролиферации $\gamma\delta$ Т-клеток, полученных из iPS-клеток (i $\gamma\delta$ Т-клеток). Вертикальная ось показывает скорость пролиферации клеток, а горизонтальная ось показывает количество дней, прошедших со дня, когда была начата стимуляция антителом к CD3 (UCHL1) и антителом к CD30.

[29] На ФИГ. 5 показана экспрессия молекул CD3 и $\gamma\delta$ TCR на поверхности клеточной мембраны $\gamma\delta$ Т-клеток (клеток i $\gamma\delta$ 2Т), дифференцированных путем введения гена V γ 9V δ 2TCR в iPS-клетки.

[30] На ФИГ. 6 показаны результаты измерения пролиферации клеток iMesothelin-

CAR/IL-15 γ 9 δ 2T. Вертикальная ось показывает количество клеток, а горизонтальная ось показывает количество дней, прошедших со дня начала стимуляции антителом к CD3 (UCHT1).

[31] На ФИГ. 7А показано окрашивание мезотелином линий опухолевых клеток.

[32] На ФИГ. 7В показано, что клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T убивают мезотелин-положительные клеточные линии *in vitro* дозозависимым образом.

[33] На ФИГ. 8 показано, что клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 8T, содержащие костимулирующие домены CD28 или 4-1BB, превосходят другие протестированные костимулирующие домены.

[34] На ФИГ. 9А-ФИГ. 9D показано, что клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T с mIL15/Ra или sushi15 проявляют более высокую противоопухолевую эффективность, чем другие протестированные клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T. На ФИГ. 9А и ФИГ. 9В показан режим группы 1 (5×10^6 клеток). На ФИГ. 9С и ФИГ. 9D показан режим группы 2 ($1,5 \times 10^6$ клеток).

[35] На ФИГ. 9Е показано, что клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T, содержащие 4-1BB, проявляют более высокий противоопухолевый эффект, чем клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T, содержащие CD28.

[36] На ФИГ. 10 показан ксенотрансплантат GSU в п/к с внутриопухолевой инъекцией клеток iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T. Клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T, экспрессирующие либо mIL15/Ra, либо sushi15, демонстрируют более высокую эффективность, чем другие протестированные клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T.

[37] На ФИГ. 11 показана эффективность внутрибрюшинного и внутривенного введения клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T во внутрибрюшинной модели ксенотрансплантата GSU-redLuc.

[38] На ФИГ. 12А показаны клетки CAR-T, подсчитанные с помощью проточной цитометрии и фенотипирования FACS, выполненные в указанные моменты времени.

[39] На ФИГ. 12В показан процент цитотоксичности в CAR-T-клетках к Msln, совместно экспрессирующих CAR к Msln вместе с модулятором TGF β (например, TGF β R2-VH или dnTGF β R2) или контрольным VH к GFP (Msln-контрольный VH).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

СКОНСТРУИРОВАННЫЕ ИММУННЫЕ КЛЕТКИ

[40] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыты сконструированные иммунные клетки, которые экспрессируют сконструированную молекулу клеточной поверхности, которая специфически связывается с мезотелином, интерлейкином 15 (IL-15) и, необязательно, хемокиновым (C-C-мотив) лигандом 19 (CCL19). В некоторых вариантах осуществления сконструированная молекула клеточной поверхности содержит химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически распознает мезотелин, или T-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с мезотелином.

[41] В некоторых вариантах осуществления сконструированная иммунная клетка содержит экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую сконструированную молекулу

клеточной поверхности, экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую IL-15, и, необязательно, экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую CCL19. В некоторых вариантах осуществления сконструированная иммунная клетка экспрессирует поверхностную молекулу, которая специфически распознает мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19.

[42] Мезотелин (MSLN) представляет собой связанный с клеточной поверхностью белок, заякоренный гликозилфосфатидилинозитолом (GPI), нормальная экспрессия которого ограничена мезотелиальными клетками, такими как плевра, перикард, брюшина, влагалищная оболочка, яичники или маточные трубы. Однако также было показано, что MSLN сверхэкспрессируется при множестве видов рака, таких как злокачественная мезотелиома, рак яичников, рак молочной железы (например, тройное негативное рак молочной железы, TNBC), рак поджелудочной железы, рак легких, рак желудка, рак эндометрия, рак шейки матки, рак желчных путей, серозное рак матки, холангиокарцинома и острый миелолейкоз у детей. Кроме того, повышенная экспрессия MSLN связана с худшим прогнозом у пациентов с TNBC, раком яичников, аденокарциномой легких, холангиокарциномой и аденокарциномой поджелудочной железы.

[43] Физиологические и биологические функции MSLN полностью не выяснены. Однако было показано, что MSLN участвует в нескольких механизмах патогенеза рака. Например, при эпителиальной карциноме яичников пациентки, у которых наблюдались более высокие уровни экспрессии мРНК *MSLN* в хирургически удаленных тканях рака яичников, демонстрировали резистентность к химиотерапии платиной и циклофосфамидом по сравнению с химиочувствительными пациентами, у которых наблюдались более низкие уровни *MSLN* (Tang, et al., «The role of mesothelin in tumor progression and targeted therapy», *Anticancer Agents Med Chem.* 13(2): 276-280 (2013)). Также было обнаружено, что MSLN с высоким сродством связывается с поверхностным муцином MUC16 (или CA125), и предполагается, что это связывание опосредует адгезию клеток рака яичников к мезотелиальным клеткам и способствует метастазированию (Rump, et al., «Binding of ovarian cancer antigen CA125/MUC16 to mesothelin mediates cell adhesion», *J Biol Chem* 279(10): 9190-9198, 2004; Gubbels, et al., «Mesothelin-MUC16 binding is a high affinity, N-glycan dependent interaction that facilitates peritoneal metastasis of ovarian tumors», *Mol Cancer* 5(1): 50, 2006). Кроме того, было показано, что MSLN участвует в прогрессировании опухоли, выживании и пролиферации клеток при раке поджелудочной железы как *in vitro*, так и *in vivo* (Li, et al., «Mesothelin is a malignant factor and therapeutic vaccine target for pancreatic cancer», *Mol Cancer Ther.* 7(2): 286-296, 2008).

Химерные антигенные рецепторы (CAR)

А. Антимезотелиновые антитела

[44] В некоторых вариантах осуществления сконструированная молекула клеточной поверхности содержит химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин. В некоторых вариантах

осуществления антитело специфически распознает мезотелин млекопитающих, например, мезотелин грызунов, мезотелин примата, не являющегося человеком, или мезотелин человека.

[45] Мезотелин человека, белок массой 40 кДа, кодируется геном *MSLN*. Информацию о последовательности мезотелина человека можно получить путем поиска в общеизвестном документе или в базе данных, такой как NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/). Примеры информации об аминокислотной последовательности мезотелина человека могут включать номер доступа GenBank NP_037536.2, AAV87530.1 и их изоформы.

[46] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую или состоящую из CDRH1, как указано в SEQ ID NO: 16, CDRH2, как указано в SEQ ID NO: 17, и CDRH3, как указано в SEQ ID NO: 18; и переменную область легкой цепи (VL), содержащую или состоящую из CDRL1, как указано в SEQ ID NO: 19, CDRL2, как указано в SEQ ID NO: 20, и CDRL3, как указано в SEQ ID NO: 21. См. Таблицу 1.

Таблица 1

P4*	SEQUENCES	SEQ ID NO:
HCDR1	GDSVSSNSAT	16
HCDR2	TYYRSKWYN	17
HCDR3	ARGMMTYYYGMDV	18
LCDR1	SGINVGPIR	19
LCDR2	YKSDSDK	20
LCDR3	MIWHSSAAV	21
VH	QVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSATWNWIR	22
	QSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSK	
	NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGMMTYYYGMDVWGQG TTVTVSSGILGS	
VL	QPVLTSQSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRIYWYQQ KPGSPQYLLNYKSDSDKQGGVPSRFSKGDASANAG VLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLS	23

* Антитело к мезотелину также обозначается в данном документе как P4.

[47] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и переменную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую

последовательность на около 80% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 80% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23. Антитело к мезотелину может содержать вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую SEQ ID NO: 22 и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую SEQ ID NO: 23. Антитело к мезотелину может содержать вариабельную область тяжелой цепи (VH), состоящую из SEQ ID NO: 22 и вариабельную область легкой цепи (VL), состоящую из SEQ ID NO: 23.

[48] В некоторых вариантах осуществления один или более остатков внутри каркасной области модифицированы в антителе к мезотелину, обеспечивая 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность последовательностей в либо области VH, либо области VL. Термин «каркасная область» относится к области антитела, которая исключает определяющие комплементарность области (CDR). В некоторых вариантах

последовательности с SEQ ID NO: 23.

[49] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину содержит формат одноцепочечного варибельного фрагмента (scFv). В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит VH, содержащую или состоящую из CDRH1, как указано в SEQ ID NO: 16, CDRH2, как указано в SEQ ID NO: 17, и CDRH3, как указано в SEQ ID NO: 18; и VL, содержащую или состоящую из CDRL1, как указано в SEQ ID NO: 19, CDRL2, как указано в SEQ ID NO: 20, и CDRL3, как указано в SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит VH, содержащую последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 22; и VL, содержащую последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 23.

[50] В некоторых вариантах осуществления VH и VL антитела scFv к мезотелину соединены через пептидный линкер. Пептидный линкер может включать 3 или более аминокислотных остатка, например, от около 3 до около 30, от около 3 до около 25, от около 3 до около 20, от около 4 до около 30, от около 4 до около 20, от около 4 до около 10, от около 5 до около 30, от около 5 до около 20 или от около 5 до около 10. Пептидный линкер может включать 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 или 30 аминокислотных остатков.

[51] Пептидный линкер может включать множество полиаланинов, полиглицинов или смесь остатков аланина и глицина. Пептидный линкер может включать линкер (Gly₄Ser)_n, в котором n представляет собой целое число от 1 до 30, предпочтительно 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, 28, 29 или 30, более предпочтительно 15, 16, 17, 18, 19 или 20. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит GILGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 45) пептидный линкер содержит GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 30). В некоторых случаях, пептидный линкер содержит GSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 41). В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 45.

[52] В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичную последовательности

с
 QVQLQSQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGRYYRSKW
 YNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGMMTYYYGMDVWGQ
 GTTVTVSSGILGSGGGSGGGSGGGGSQPVLTSASSLSASPGASASLTCTLRSGINVG
 PYRIYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEA
 DYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLS (SEQ ID NO: 1), в котором линкер выделен курсивом. Антимезотелиновый scFv также обозначается в данном документе как P4. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В

некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину содержит SEQ ID NO: 1.

В. Сигнальный пептид для CAR

[53] В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор (CAR), раскрытый в настоящем документе, содержит сигнальный пептид (например, в виде лидерной последовательности). Сигнальный пептид может локализовать CAR на поверхности клетки. Сигнальный пептид может включать полипептиды тяжелой цепи иммуноглобулина, легкой цепи иммуноглобулина, CD8, α - и β -цепей рецептора Т-клеток, CD3 ζ , CD28, CD3E, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, ICOS, CD154 или сигнальный пептид, полученный из GITR (лидерная последовательность).

[54] В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид может включать полипептиды тяжелой цепи иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с MDWTWRILFLVAAATGAHS (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид содержит SEQ

ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид состоит из SEQ ID NO: 2.

C. Трансмембранные регионы

[55] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину связано с одним или более трансмембранными и внутриклеточными сигнальными доменами. Трансмембранная область может быть получена из природного или синтетического источника. Типовые трансмембранные области могут включать полипептиды трансмембранных областей, полученные из CD8, α - и β -цепей T-клеточных рецепторов, CD3 ζ , CD28, CD3E (CD3-эпсилон), CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, ICOS, CD154 и GITR. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит трансмембранную область CD8 (например, трансмембранную область CD8 человека).

[56] В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область происходит из CD8. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN (SEQ ID NO: 27). В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область состоит из SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит

последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область содержит SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления трансмембранная область состоит из SEQ ID NO: 63.

D. Внеклеточная шарнирная область

[57] Внеклеточная шарнирная область, содержащая или состоящая из произвольного олигопептида или полипептида, может быть расположена между молекулой клеточной поверхности, распознающей мезотелин, и трансмембранной областью. Примеры длины внеклеточной шарнирной области могут включать от 1 до 100 аминокислотных остатков, предпочтительно от 10 до 70, от 10 до 50 или от 10 до 30 аминокислотных остатков. Типовые внеклеточные шарнирные области могут включать шарнирные области, полученные из CD8, CD28 и CD4, и шарнирную область иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит шарнирную область CD8 человека.

[58] В некоторых вариантах осуществления внеклеточная шарнирная область представляет собой шарнирную область CD8, содержащую последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с RTTTPAPRPPTPAPRTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (SEQ ID NO: 26). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 26. В

некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 состоит из SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с TTTTAPRRPPTPARTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (SEQ ID NO: 64). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 содержит SEQ ID NO: 64. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область CD8 состоит из SEQ ID NO: 64.

[59] В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину соединено с шарнирной областью через пептидный линкер. Пептидный линкер может включать 3 или более аминокислотных остатка, например, от около 3 до около 30, от около 3 до около 20, от около 3 до около 10, от около 4 до около 30, от около 4 до около 20, от около 4 до около 10, от около 5 до около 30, от около 5 до около 20 или от около 5 до около 10. Пептидный линкер может включать 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 или 30 аминокислотных остатков.

[60] Пептидный линкер может включать множество полиаланинов, полиглицинов, смесь остатков аланина и глицина, или смесь аланинов или глицинов с одной или более дополнительными аминокислотами. В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер содержит ArgAlaAlaAla («RAAA») (SEQ ID NO: 4). В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер представляет собой ArgAlaAlaAla («RAAA») (SEQ ID NO: 4). В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер содержит AlaAlaAla («AAA»). В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер представляет собой тройной аланиновый линкер или AlaAlaAla («AAA»).

[61] В некоторых вариантах осуществления антитело scFv к мезотелину соединено с шарнирной областью без линкера.

E. Внутриклеточные сигнальные области (костимулирующий домен)

[62] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит одну или более внутриклеточных сигнальных областей. Внутриклеточные сигнальные области (обратите внимание, что внутриклеточные сигнальные области также называются в данном документе «костимулирующим доменом») могут включать область, способную передавать сигналы в клетку, когда молекула клеточной поверхности распознает мезотелин. Внутриклеточная сигнальная область может содержать по меньшей мере один или более членов, выбранных из внутриклеточных областей полипептидов CD28, 4-1BB (CD137), GITR, CD27, OX40, HVEM, CD3 ζ или γ -цепи, связанной с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит полипептид внутриклеточной области CD28 (костимулирующий домен), полипептид внутриклеточной области 4-1BB (костимулирующий домен), полипептид внутриклеточной области CD3 или их комбинацию.

[63] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит внутриклеточную область 4-1BB (костимулирующий домен). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB (костимулирующий домен) содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO: 24). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB содержит SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB состоит из SEQ ID NO: 24.

[64] В некоторых вариантах осуществления CAR дополнительно содержит внутриклеточную область CD3 ζ . В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

(SEQ ID NO: 25). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ содержит SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область CD3 ζ состоит из SEQ ID NO: 25.

IL-15

[65] Интерлейкин 15 (IL-15) участвует в развитии, дифференцировке и гомеостазе лимфоцитов. IL-15 также стимулирует Т-клетки CD8 и индуцирует активацию естественных клеток-киллеров (NK). В микроокружении опухоли экспрессия IL-15 коррелирует с усилением противоопухолевых ответов. Более того, экспрессия IL-15 показала преимущества во время экспансии Т-клеток *ex vivo* и повышает эффективность CAR-Т-клеток.

[66] Термин «IL-15», в контексте данного документа, охватывает не только полноразмерный белок IL-15, но также его фрагменты, при условии, что сохраняется функция IL-15 в эффекте настоящего изобретения. Кроме того, термин «IL-15» охватывает IL-15 дикого типа и его варианты, содержащие одну или более мутаций. В некоторых случаях мутации включают делеции, замены и/или добавления. Например, IL-15 может содержать одну или более замен. IL-15 может также содержать укороченные 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 или более аминокислотных остатков, в которых укорочение может быть расположено в N -конце, С-конце или внутренней области IL-15. Кроме того, IL-15 или его вариант может быть связан с другим белком с образованием слитого белка (например, связанного с целым или частью IL-15R α). IL-15 может представлять собой мембраносвязанный белок или секретируемый белок.

A. mIL15/R α

[67] В некоторых случаях IL-15 содержит мембраносвязанный IL-15, слитый с α -цепью рецептора IL-15 (IL-15R α). Слитый белок IL-15 обозначается в данном документе как mIL15/R α . IL-15R α включает весь IL-15R α дикого типа (без сигнального пептида), но также включает его функциональный фрагмент (например, внеклеточный домен или sushi-

домен IL-15R α) и варианты IL-15R α , необязательно включающий одну или более замен, делеций или добавлений.

[68] В некоторых случаях слитый белок mIL15/Ra содержит полипептид IL-15R α , слитый с С-концом мембраносвязанного полипептида IL-15 либо прямо, либо опосредованно через линкер. Пептидный линкер может включать 1 или более аминокислотных остатков, например, от около 1 до около 30, от около 3 до около 20, от около 3 до около 10, от около 4 до около 30, от около 4 до около 20, от около 4 до около 10, от около 5 до около 30, от около 5 до около 20 или от около 5 до около 10. Пептидный линкер может включать 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 или 30 аминокислотных остатков.

[69] Пептидный линкер может включать множество полиаланинов, полиглицинов или смесь остатков аланина и глицина. Пептидный линкер может включать линкер (Gly₄Ser)_n, в котором n представляет собой целое число от 1 до 30, предпочтительно 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, 28, 29 или 30, более предпочтительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ (SEQ ID NO: 32). В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SGGSGGGGSGGGGSGGGSLQ (SEQ ID NO: 33). В некоторых случаях, пептидный линкер содержит GGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO: 30). В некоторых случаях, пептидный линкер содержит GSGGGGSGGGGSGGGG (SEQ ID NO: 41). В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 45.

[70] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в настоящем документе, экспрессирует mIL15/Ra. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с
 NWVNVISDLKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIH
 DTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGG
 GGSGGGGSGGGGSGGGSLQITCPPMVSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSS
 LTECVLNKATNVANHWTTPLKCI RDPALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAA
 SSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQ
 PPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLLACYLKS RQTPPLASVEMEAMEALPVTW
 GTSSRDEDL ENCSHHL (SEQ ID NO: 8). В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra
 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 8. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra содержит последовательность на
 около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах
 осуществления mIL15/Ra содержит последовательность на около 95% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra
 содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 8. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra содержит последовательность на
 около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах
 осуществления mIL15/Ra содержит последовательность на около 98% идентичную

последовательности с SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra содержит SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra состоит из SEQ ID NO: 8.

[71] В некоторых случаях mIL15/Ra дополнительно содержит сигнальный пептид IL-2 (IL2sp). В некоторых случаях IL2sp содержит MYRMQLLSCIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 6). В некоторых случаях IL2sp состоит из SEQ ID NO: 6.

[72] В некоторых случаях описанная в данном документе иммунная клетка экспрессирует полипептид IL2sp-mIL15/Ra, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с MYRMQLLSCIALSLALVTNSATSNEWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKE FLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQITCPPPMSVEHADIWVKS YLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVANHWTPSLKCIRDPALVHQRAPPS TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPKSPSTGTTEISSHES SHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKS RQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELENCSSHL (SEQ ID NO: 28). В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra содержит SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях полипептид IL2sp-mIL15/Ra состоит из SEQ ID NO: 28.

B. sushi15

[73] В некоторых случаях IL-15 содержит sushi домен α -цепи рецептора IL-15 (IL-15R α), слитый с IL-15. Данный слитый белок IL-15 упоминается в данном документе как sushi15. Домен sushi IL-15R α слит с C-концом полипептида IL-15 либо прямо, либо опосредованно через линкер.

[74] В некоторых случаях sushi-домен IL-15R α слит с полипептидом IL-15 опосредованно через линкер. Пептидный линкер может включать 1 или более аминокислотных остатков, например, от около 1 до около 30, от около 3 до около 20, от около 3 до около 10, от около 4 до около 30, от около 4 до около 20, от около 4 до около 10, от около 5 до около 30, от около 5 до около 20 или от около 5 до около 10. Пептидный линкер может включать 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 или 30 аминокислотных остатков.

[75] Пептидный линкер может включать множество полиаланинов, полиглицинов

или смесь остатков аланина и глицина. Пептидный линкер может включать линкер (Gly₄Ser)_n, в котором n представляет собой целое число от 1 до 30, предпочтительно 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, 28, 29 или 30, более предпочтительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 32. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 33. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 30. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 41. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 45.

[76] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в настоящем документе, экспрессирует sushi15. В некоторых вариантах осуществления sushi15 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с ITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLK CIRSGGGSGGGSGGGSGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL EEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (SEQ ID NO: 10). В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 содержит SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях sushi15 состоит из SEQ ID NO: 10.

[77] В некоторых случаях sushi15 дополнительно содержат сигнальный пептид IL-15R α (IL15Rasp). В некоторых случаях IL15Rasp содержит MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRG (SEQ ID NO: 7). В некоторых случаях IL15Rasp состоит из SEQ ID NO: 7.

[78] В некоторых случаях описанная в данном документе иммунная клетка экспрессирует полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPM SVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLK CIRSGGGSGGGSGGGSGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHD TVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL EEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (SEQ ID NO: 29). В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 85% идентичный

последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 содержит SEQ ID NO: 29. В некоторых случаях полипептид IL15Rasp-sushi15 состоит из SEQ ID NO: 29.

C. mIL15/Ra-LSP

[79] В некоторых случаях IL-15 содержит мембраносвязанный IL-15, слитый с α -цепью рецептора IL-15 (IL-15R α), пропептид IL-15 и длинный сигнальный пептид слитого белка IL-15 (LSP). Этот слитый белок IL-15 обозначается в данном документе как mIL15/Ra-LSP. Полипептид IL-15R α содержит полную размерную цепь IL-15R α без сигнального пептида. IL-15R α слит с C-концом полипептида IL-15 либо прямо, либо опосредованно через линкер. Пропептид IL15 слит с C-концом LSP прямо или опосредованно. Пропептид IL-15 слит с C-концом полипептида IL-15R α либо прямо, либо опосредованно. В некоторых случаях пропептид IL15 содержит GINVFILGCFSAGLPKTEA (SEQ ID NO: 48). В некоторых случаях пропептид IL15 состоит из SEQ ID NO: 48. В некоторых случаях LSP содержит MRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEA (SEQ ID NO: 47). В некоторых случаях LSP состоит из SEQ ID NO: 47.

[80] В некоторых случаях IL-15R α слит с C-концом полипептида IL-15, опосредованно через линкер. Пептидный линкер может включать 1 или более аминокислотных остатков, например, от около 1 до около 30, от около 3 до около 20, от около 3 до около 10, от около 4 до около 30, от около 4 до около 20, от около 4 до около 10, от около 5 до около 30, от около 5 до около 20 или от около 5 до около 10. Пептидный линкер может включать 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25 или 30 аминокислотных остатков.

[81] Пептидный линкер может включать множество полисеринов, полиглицинов или смесь остатков серина и глицина. Пептидный линкер может включать линкер (Gly₄Ser)_n, в котором n представляет собой целое число от 1 до 30, предпочтительно 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, 28, 29 или 30, более предпочтительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 32. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 33. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 30. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 41. В некоторых случаях, пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 45.

[82] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в

настоящем документе, экспрессирует mIL15/Ra-LSP. В некоторых вариантах осуществления mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFI LGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIED LIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSS NGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGSLQITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVA HWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT VAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENC S HHL (SEQ ID NO: 9). В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP содержит SEQ ID NO: 9. В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP состоит из SEQ ID NO: 9.

[83] В некоторых случаях mIL15/Ra-LSP дополнительно содержит сигнальный пептид IL-2 (IL2sp). В некоторых случаях IL2sp содержит SEQ ID NO: 6. В некоторых случаях IL2sp состоит из SEQ ID NO: 6.

D. sIL15-LSP

[84] В некоторых вариантах осуществления IL-15 содержит полипептид IL-15, пропептид IL-15 и длинный сигнальный пептид слитого белка IL-15 (LSP). Данный слитый белок IL-15 упоминается в данном документе как sIL15. Пропептид IL15 слит с С-концом LSP прямо или опосредованно. Полипептид IL-15 слит с С-концом пропептида IL-15 либо прямо, или опосредованно. В некоторых случаях пропептид IL15 содержит SEQ ID NO: 48. В некоторых случаях пропептид IL15 состоит из SEQ ID NO: 48. В некоторых случаях LSP содержит SEQ ID NO: 47. В некоторых случаях LSP состоит из SEQ ID NO: 47. В некоторых случаях описанная в данном документе иммунная клетка экспрессирует sIL15. В некоторых вариантах осуществления sIL15 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности

с
MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFI LGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIED LIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSS

NGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVIVQMFINTS (SEQ ID NO: 11). В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 содержит SEQ ID NO: 11. В некоторых случаях sIL15 состоит из SEQ ID NO: 11.

CCL19

[85] Лиганд 19 хемокина (мотив C-C) (CCL19), также известный как хемокин лиганда EB11 (ELC) и воспалительный белок-3-бета макрофагов (MIP-3-бета), играет роль в рециркуляции и возвращении лимфоцитов. CCL19 экспрессируется дендритными клетками или макрофагами лимфатических узлов и выполняет функцию инициации миграции Т-клеток, В-клеток или зрелых дендритных клеток через рецептор CCR7.

[86] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка, описанная в настоящем документе, дополнительно экспрессирует CCL19. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с GTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRNFHYLLIKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVE RIIQRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID NO: 13). В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 содержит SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CCL19 состоит из SEQ ID NO: 13.

[87] В некоторых вариантах осуществления CCL19 дополнительно содержит сигнальный пептид MALLLALSLLVLWTSPAPTLS (SEQ ID NO: 12) (также называемый в

данном документе эндосп). В некоторых случаях иммунная клетка, описанная в настоящем документе, экспрессирует как сигнальный пептид SEQ ID NO: 12, так и CCL19, содержащие последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 13. В некоторых случаях CCL19 слит с С-концом эндосп.

Дополнительный фактор контроля иммунной функции

[88] Иммунная клетка по настоящему изобретению может дополнительно экспрессировать дополнительный фактор контроля иммунной функции, такой как CCL21, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, IP-10, интерферон- γ , MIP-1альфа, GM-CSF, M-CSF, TGF-бета, XCL1, FLT3L или TNF-альфа. В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции содержит IL-2. В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции содержит IL-7. В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции содержит интерферон- γ . В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции содержит GM-CSF. В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции содержит TGF-бета. В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции содержит TNF-альфа. В некоторых вариантах осуществления дополнительный фактор контроля иммунной функции предпочтительно представляет собой фактор контроля иммунной функции, отличный от IL-12.

Расположение каждой области

[89] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыта выделенная молекула нуклеиновой кислоты, содержащая один или более полинуклеотидов, которые кодируют сконструированную молекулу клеточной поверхности, которая специфически связывается с мезотелином (например, CAR, который специфически связывается с мезотелином), IL-15 и, необязательно, CCL19. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, кодирующий CAR, содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8, внутриклеточную область 4-1BB и внутриклеточную область CD3 ζ ; и второй полинуклеотид, который кодирует IL-15. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, кодирующий CAR, содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8, внутриклеточную область 4-1BB и внутриклеточную область CD3 ζ ; второй полинуклеотид, кодирующий IL-15; и третий полинуклеотид, который кодирует CCL19. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды, которые кодируют CAR, IL-15 и CCL19, расположены на двух или более разных полинуклеотидах в молекуле нуклеиновой кислоты. В других вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотиды, которые кодируют CAR и IL-15, полинуклеотиды, которые кодируют CAR и CCL19, или

полинуклеотиды, которые кодируют CAR, IL-15 или CCL19.

[90] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, содержит сигнальный пептид, расположенный выше антителя, которое специфически распознает мезотелин человека. В некоторых вариантах осуществления антитело связано с шарнирной областью CD8 с помощью пептидного линкера (например, SEQ ID NO: 41). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область 4-1BB расположена выше внутриклеточной области CD3 ζ в полинуклеотиде.

[91] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащую последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSATWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLS (SEQ ID NO: 3)

(также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4). CAR может содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3. CAR может содержать SEQ ID NO: 3. CAR может состоять из SEQ ID NO: 3.

[92] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSATWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTPAPRPPT
PARTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN
KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 46)

(также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR). CAR может содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR

может содержать последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR может содержать последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR может содержать последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR может содержать последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 46. CAR может содержать SEQ ID NO: 46. CAR может состоять из SEQ ID NO: 46.

[93] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTPAPRPPT
 PAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLLSLVITLYCN
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 43) (также
 упоминаемый в данном документе как ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 43. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 43. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 43. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 43. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 43. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 43. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 43. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 43. CAR может состоять из SEQ ID NO: 43.

[94] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSPTTPAPRPPTPAPT

IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNKRGR
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
 NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG
 ERRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 65). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 65. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 65. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 65. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 65. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 65. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 65. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 65. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 65. CAR может состоять из SEQ ID NO: 65.

[95] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на
 около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную
 последовательности с

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQGSQVPSRFSGS
 KDasANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSTTTPAPRPPTPAPTI
 ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
 ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG
 RRRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 66). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 66. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 66. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 66. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 66. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 66. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 66. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 66. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 66. CAR может состоять из SEQ ID NO: 66.

[96] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на
 около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную
 последовательности с

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSATWNWI

RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWVGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLTOSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSPTTTPAPRPPTPAPT
 IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
 ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE
 RRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 67). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 67. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 67. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 67. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 67. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 67. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 67. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 67. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 67. CAR может состоять из SEQ ID NO: 67.

[97] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на
 около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную
 последовательности c

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWVGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLTOSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSTTTPAPRPPTPAPTI
 ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNKRGR
 KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
 NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG
 ERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 68). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 68. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 68. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 68. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 68. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 68. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 68. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 68. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 68. CAR может состоять из SEQ ID NO: 68.

[98] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAAPTTTTAPRPPTP
 APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 69). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 69. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 69. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 69. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 69. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 69. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 69. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 69. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 69. CAR может состоять из SEQ ID NO: 69.

[99] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAATTTTTAPRPPTP
 APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 70). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 70. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 70. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 70. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 70. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с

SEQ ID NO: 70. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 70. CAR может содержать последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 70. CAR может содержать SEQ ID NO: 70. CAR может состоять из SEQ ID NO: 70.

[100] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности c

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLTLTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAATTPAPRPPTP
 APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR
 GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM
 KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (SEQ ID NO: 71). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 71. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 71. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 71. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 71. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 71. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 71. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 71. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 71. CAR может состоять из SEQ ID NO: 71.

[101] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности c

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLTLTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAATTPAPRPPTP
 APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR
 GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM
 KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (SEQ ID NO: 72). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 72. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную

последовательности с SEQ ID NO: 72. CAR может содержать последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 72. CAR может содержать последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 72. CAR может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 72. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 72. CAR может содержать последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 72. CAR может содержать SEQ ID NO: 72. CAR может состоять из SEQ ID NO: 72.

[102] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности c

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 73). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 73. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 73. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 73. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 73. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 73. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 73. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 73. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 73. CAR может состоять из SEQ ID NO: 73.

[103] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности c

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAATTPAPRPPTP
 APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN

QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 74). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 74. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 74. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 74. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 74. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 74. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 74. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 74. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 74. CAR может состоять из SEQ ID NO: 74.

[104] Полинуклеотид может кодировать CAR, содержащий последовательность на
 около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную
 последовательности c

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAATTPAPRPPTP
 APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR
 GRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM
 KGERRRGKGHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR (SEQ ID NO: 75). CAR может
 содержать последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 75. CAR может содержать последовательность на около 90% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 75. CAR может содержать последовательность на около
 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 75. CAR может содержать
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 75. CAR
 может содержать последовательность на около 97% идентичную последовательности с
 SEQ ID NO: 75. CAR может содержать последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 75. CAR может содержать последовательность на около
 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 75. CAR может содержать SEQ ID
 NO: 43. CAR может состоять из SEQ ID NO: 75.

[105] Полинуклеотид, кодирующий CAR, описанный в настоящем документе,
 может содержать последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%
 или 100% идентичную последовательности c

ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGC
 CAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACATTGAGC
 TTGACTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAACTGG

ATTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTTCGGACCTACTATCGGAG
 CAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAATCCTG
 ACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGACACA
 GCTGTGTACTATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTG
 GGGCCAGGGAACACTACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGGCGGCG
 GTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAACCTGTGCTGACCCAGAGC
 AGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCGCTCC
 GGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCTCCCCT
 CCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGGCTCCGGTGTG
 CCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCCTGATC
 AGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAG
 CGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCCGCTGCACC
 TACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCCAACC
 ACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCG
 CGGACTTGATTTTGTCTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGAACCTGTGGA
 GTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAAA
 CTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAA
 GATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTGCGAGT
 AAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTTCAGAACCAGCTCT
 ACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTACTCGACAAGAGAAG
 GGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGG
 CTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCAT
 GAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTTGTCT
 ACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCTCCCCGA

(SEQ ID NO: 50),
 ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGC
 CAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACATTGAGC
 TTGACTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAACTGG
 ATTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTTCGGACCTACTATCGGAG
 CAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAATCCTG
 ACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGACACA
 GCTGTGTACTATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTG
 GGGCCAGGGAACACTACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGGCGGCG
 GTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAACCTGTGCTGACCCAGAGC
 AGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCGCTCC
 GGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGATCCCCT
 CCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGGCTCCGGTGTG
 CCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCCTGATC
 AGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAG
 CGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCCGCTGCACC

TACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCCAACC
 ACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCG
 CGGACTTGATTTTGTCTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCTTGCCGGAACCTGTGGA
 GTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAAA
 CTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAA
 GATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCCAGAGGAAGAAGAGGGGCGGCTGCGAGCTGCGAGT
 AAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTCAAGAACAGCTCT
 ACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTACTCGACAAGAGAAG
 GGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGG
 CTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCAT
 GAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTTGTCT
 ACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCCTCCCCGA

(SEQ	ID	NO:	51)	или
ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCCTCGTCGCAGCGGCCACTGGTGCCCATTC				
CAAGTCCAACCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACTCTCAG				
CCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGGAACCTG				
GATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCTATTATAGGT				
CCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAACCCTG				
ATACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCCGAAGATACTG				
CTGTGTATTACTGTGCCCGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGTGTGGG				
GGCAGGGAACAACCGTTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCGGTGGA				
AGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAATCTTCT				
TCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGATCAGGC				
ATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAAGCCTGGATCACCGCCC				
CAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGGCGTGCC				
GAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCTCATCAG				
CGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTACTACTGCATGATTTGGCATAAGCAGTG				
CAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCTCTCTCGCGCCGCGCTCCGA				
CCACCACCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCAAACCATGCCAGCCAGCCTC				
TCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATACTCGGG				
GTCTCGATTTGCGCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTTGTGGCG				
TTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTCTACTGTAATAAGAGGGGGAGGAAGAAAC				
TCCTGTATATTTTCAAACAACCTTTATGCGCCCTGTCCAAACCACCAGGAAGAAG				
ATGGATGTAGTTGCAGATTCCCAGAAGAAGAGGAGGGTGGGTGTGAACTTAGGGTG				
AAGTTTAGTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAAGAACCAACTCTAC				
AATGAGCTGAATCTGGGGAGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAAGACGCGG				
CCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGAAGGATTG				
TACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAA				
GGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCTTTCAACC				
GCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACGC (SEQ ID				

NO: 52). Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 85% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 90% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 95% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 96% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 97% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 98% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты на около 99% идентичной последовательности с SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может содержать SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52. Полинуклеотид может состоять из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 или SEQ ID NO: 52.

[106] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и, необязательно, полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый независимо транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий саморасщепляющийся пептид 2A (пептид 2A) или участок внутренней посадки рибосомы (IRES). В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый независимо транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий пептид 2A или IRES. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий IL-15, транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий пептид 2A или IRES.

[107] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и, необязательно, полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый независимо транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий пептид 2A. В семействе пептидов 2A четыре члена: P2A, E2A, F2A и T2A. P2A получали из свиного тековруса-1 2A. E2A получали из вируса ринита лошадей A. F2A получали из вируса ящура 18. T2A получали из вируса асигна 2A. Типовые последовательности членов пептида 2A включают:

[108] P2A - ATNFSLLKQAGDVEENPGP;

[109] E2A - QCTNYALLKLAGDVESNPGP;

[110] F2A - VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP; и

[111] T2A - EGRGSLTTCGDVEENPGP.

[112] В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер дополнительно добавляют к концу пептида 2A, например, к N-концу. В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер содержит GSG. В некоторых случаях P2A содержит

GSGATNFSLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 5).

[113] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый независимо транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий пептид 2A. В некоторых случаях полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, транскрибируются под промотором, содержащим один и тот же пептид 2A. В некоторых случаях полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый транскрибируется под промотором, содержащим два разных пептида 2A. В некоторых случаях полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый независимо транскрибируется под промотором, содержащим разные пептиды 2A.

[114] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19, каждый независимо транскрибируется под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий пептид P2A. Пептид P2A может содержать ATNFSLKQAGDVEENPGP. Пептид P2A также может содержать SEQ ID NO: 5.

[115] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, и полинуклеотид, кодирующий IL-15, расположены в молекуле нуклеиновой кислоты от 5'-конца до 3'-конца следующим образом:

[116] полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий IL-15; или

[117] полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CAR.

[118] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, расположены в молекуле нуклеиновой кислоты от 5'-конца к 3'-концу следующим образом:

[119] полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CCL19;

[120] полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий IL-15;

[121] полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий CCL19;

[122] полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий IL-15;

[123] полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий CAR; или

[124] полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий IL-15 - полинуклеотид, кодирующий CAR.

[125] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий mIL-15/Ra, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%

идентичный последовательности с
 MYRMQLLSCIALSLALVTNSATSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV
 TAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKE
 FLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQITCPPPMSVEHADIWVKS
 YSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVANHWTTPSLKCIRD PALVHQR PAPS
 TVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHES
 SHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAV SLLACYLKS
 RQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENC SHHLGSGATNFSLLKQAGDVEENPG
 PMALLALSLLVLWTSPAP TLSGTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRN FHYLLIKDGCRVPA
 VVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID NO: 14) (также
 упоминаемый в данном документе как mIL15/Ra-P2A-CCL19). В некоторых случаях
 выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85%
 идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная
 молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 14. В некоторых
 случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из
 SEQ ID NO: 14.

[126] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой
 кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий sushi15, и полинуклеотид, кодирующий
 CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует
 полипептид, содержащий на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%
 идентичную последовательности с

MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKS YSLYSRERYICN
 SGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVANHWTTPSLKCIRSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
 LQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASI
 HDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATN
 FSLLKQAGDVEENPGPMALLALSLLVLWTSPAP TLSGTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVR
 NFHYLLIKDGCRVPA VVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID
 NO: 31) (также упоминаемый в данном документе как IL15Rasp-sushi15 -P2A- endosp-

CCL19 или sushi15-CCL19). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 31.

[127] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий mIL-15/Ra. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSATWNWI RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY YCARGMMTYYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPVLQSSSL ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTTAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC NKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDLGQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEE NPGPMYRMQLLSIALSLALVTNSATSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEK NIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQITCPPPMSVEHADI WVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIKDPALVHQR PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEI SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLLA CYLKSRTPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENCSHHL (SEQ ID NO: 34) (также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra или P4-BB-mIL15/Ra). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует

полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 34.

[128] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra или P4-BB-mIL15/Ra, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с

ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGC
 CAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGA CTCTAGTCAGACATTGAGC
 TTGACTTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAACTGG
 ATTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTCCGACCTACTATCGGAG
 CAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAATCCTG
 ACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGA CTCCAGAGGACACA
 GCTGTGTA CTATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTG
 GGGCCAGGGA ACTACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGCGGCG
 GTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAA CCTGTGCTGACCCAGAGC
 AGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCGCTCC
 GGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCTCCCCT
 CCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGGTGTG
 CCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCCTGATC
 AGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAG
 CGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCCGCTGCACC
 TACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCCAACC
 ACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCG
 CGGACTTGATTTTGCTTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCTTGCCGGA ACTTGTGGA
 GTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAAA
 CTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAA

GATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTGCGAGT
AAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATACCAGCAGGGTCAGAACCAGCTCT
ACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTACTCGACAAGAGAAG
GGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGG
CTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCAT
GAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTTGTCT
ACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCCTCCCCGAGGT
TCAGGCGCAACAAATTTTTCACTTCTTAAACAAGCTGGCGATGTCGAGGAAAACCCA
GGTCCCATGTATAGAATGCAGCTTCTGTATGTATCGCACTGAGTCTGGCCCTGGTG
ACCAACAGTGCCACCAGCAACTGGGTGAATGTGATAAGCGACCTTAAGAAAATAGA
AGACCTTATTCAGTCCATGCACATAGATGCCACACTGTACACCGAGAGCGATGTGCA
CCCTTCCTGCAAAGTGACAGCTATGAAATGCTTCCTTCTGGAAGTCAAGTAATTC
ATTGGAATCTGGCGATGCTTCCATACATGACACCGTGGAAAACCTTATTATTTGGC
TAACAATTCATTGAGCTCAAATGGAAACGTGACAGAATCCGGTTGTAAGGAATGTG
AAGAGCTGGAAGAAAAAATATCAAGGAATTCCTGCAGAGCTTTGTTACATTGTG
CAAATGTTTATTAATACATCCTCAGGGGGCGGTTCCGGAGGCGGGGGAAGTGGCGG
AGGAGGAAGCGGCGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGATCACTTCAAATCACATGTCCC
CCCCCTATGAGTGTTGAACATGCTGACATCTGGGTGAAATCCTATTCCCTTTATTCAA
GAGAACGATACATATGTAATTCCGGGTTTAAGAGGAAAGCAGGCACATCATCTCTC
ACCGAATGTGTCCTGAATAAGGCGACAAACGTAGCTCACTGGACTACGCCCTCCCTC
AAATGCATTAGAGACCCAGCACTCGTGCACCAAAGGCCAGCCCCCCCCAAGCACCGT
CACTACTGCAGGTGTAACCCCGCAACCAGAATCCCTCTACCAAGCGGAAAAGAGC
CAGCCGCATCTTCTCCTAGTTCCAATAATACAGCCGCGACAACAGCCGCAATTGTCC
CTGGAAGCCAGTTGATGCCATCAAAGTCCCCAAGTACGGGTACGACCGAAATCTCC
TCCCACGAAAGCAGCCACGGAACACCAAGCCAGACTACCGCCAAGAACTGGGAGCT
GACCGCTTCTGCATCACATCAGCCGCCGGGAGTGTATCCACAGGGGGCACTCTGATAC
CACAGTAGCAATCTCAACCTCCACCGTCTGCTGTGTGGCCTTAGCGCTGTGTCTCTC
CTCGCATGTTACCTCAAATCCAGGCAGACCCCCCCCCCTTGCTAGTGTGAAATGGAG
GCAATGGAAGCACTTCCCGTGACATGGGGCACTTCTAGCAGAGATGAGGACCTTGA
AAACTGCTCACACCACCTC (SEQ ID NO: 37). В некоторых случаях выделенная
молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную
последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула
нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную
последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула
нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную
последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула
нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную
последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула
нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную
последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула

нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 37.

[129] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий sushi15. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY YCARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLQSSSL ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTTAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC NKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDLGQGLSTATKDTYDALHMQALPPRSGGATNFSLLKQAGDVEE NPGPMAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRER YICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVANHWTPSLKCIIRSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDVTENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (SEQ ID NO: 35) (также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR-P2A-sushi15 или P4-BB-sushi15). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35. В некоторых

случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 35.

[130] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая ssVH-P4-CAR-P2A-sushi15 или P4-BB-sushi15 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с

ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGC
 CAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACATTGAGC
 TTGACTTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAACTGG
 ATTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTCGGACCTACTATCGGAG
 CAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAATCCTG
 ACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGACACA
 GCTGTGTAATAATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTG
 GGGCCAGGGAACACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGCGGCG
 GTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAACCTGTGCTGACCCAGAGC
 AGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCGCTCC
 GGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGATCCCCT
 CCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGGTGTG
 CCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCCTGATC
 AGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAG
 CGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGGCCGCTGCACC
 TACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCCAACC
 ACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCG
 CGGACTTGATTTTGCTTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGAACCTTGTTGA
 GTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAAA
 CTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAA
 GATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTGCGAGT
 AAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTCAGAACCAGCTCT
 ACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTAAGAGAGAGAGAGAG
 GGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGG
 CTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCAT
 GAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTTGTCT
 ACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCTCCCCGAGGG
 TCTGGCGCTACGAATTTCTCTCTCCTTAAACAGGCCGGAGACGTGGAAGAAAATCCC
 GGCCCGATGGCGCCCCGCAGGGCCCCGCGGGTGTGCAACATTGGGTCTGCCTGCTCTC
 TTGCTGCTGTTGCTTCTCAGACCTCCCGCCACACGCGGAATTACGTGCCCTCCCCCA
 TGTCTGTGGAACATGCCGACATATGGGTCAAGTCTTACAGTCTTTACTCTAGAGAAC
 GGTATATCTGCAATAGCGGGTTCAAAGAAAAGCAGGGACTTCCAGCCTGACAGAG
 TGCGTACTGAATAAGGCCACTAACGTTGCTCACTGGACCACCCCATCATTGAAGTGT
 ATTCGATCAGGAGGCGGAAGCGGTGGTGGGGGCTCAGGGGGTGGCGGTAGTGGAG

GCGGGGGCAGCGGAGGGGGCTCTTTGCAAAACTGGGTAAATGTTATTAGCGACCTT
 AAGAAAATCGAGGACCTGATACAGTCCATGCACATCGATGCGACCCTGTACACTGA
 GAGCGATGTGCATCCCAGTTGCAAAGTGACTGCTATGAAATGCTTTCTGCTCGAGTT
 GCAGGTGATCTCCCTGGAAAGCGGCGACGCCTCAATACACGACACGGTTCGAAAATC
 TGATCATTCTCGCCAACAACCTCTCTCTCAAGTAACGGGAATGTGACAGAAAGTGGAT
 GCAAAGAATGCGAGGAACTTGAGGAGAAAAACATTAAGAATTCCTCCAGTCCTTC
 GTCCACATCGTGCAGATGTTTATCAATACTTCC (SEQ ID NO: 38). В некоторых
 случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на
 около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях
 выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90%
 идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях выделенная
 молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 38.

[131] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой
 кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается
 с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий mIL-15/Ra, и полинуклеотид, кодирующий
 CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует
 полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный
 последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTTAPRPP
 TPARTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
 NKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG
 QNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE
 IGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRSGATNFSLLKQAGDVEE
 NPGPMYRMQLLSIALSLALVTNSATSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHP
 SCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEK

NIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQITCPPPMSVEHADI
 WVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK CIRD PALVHQR
 PAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPKSPSTGTTEI
 SSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLLA
 CYLKS RQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELENC SHHLGSGATNFSLLKQAGDV
 EENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTL SGTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRNFHYLLIKDG
 CRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID NO: 36)
 (также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra-P2A-
 CCL19 или P4-BB-mIL15-CCL19). В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36. В некоторых
 случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из
 SEQ ID NO: 36.

[132] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой
 кислоты, кодирующая ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra-P2A-CCL19 или P4-BB-mIL15-
 CCL19, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную
 последовательности

ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCCTCGTCGCAGCGGCCACTGGTGCCCATTC A
 CAAGTCCA ACTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACTCTCAG
 CCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGGA ACTG
 GATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCTATTATAGGT
 CCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAACCCTG
 A TACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCGAAGATACTG
 CTGTGTATTACTGTGCCCGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGTGTGGG
 GGCAGGGAACAACCGTTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCGGTGGA
 AGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAATCTTCT
 TCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGATCAGGC

ATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAAGCCTGGATCACCGCCC
CAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGGCGTGCC
GAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCTCATCAG
CGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTACTACTGCATGATTTGGCATAGCAGTG
CAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCTCTCTCGCGCCGCCGCTCCGA
CCACCACCCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCCAACCATTGCCAGCCAGCCTC
TCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATACTCGGG
GTCTCGATTTGCGCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTTGTGGCG
TTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTCTACTGTAATAAGAGGGGGAGGAAGAAAC
TCCTGTATATTTCAAACAACCCTTTATGCGCCCTGTCCAAACCACCCAGGAAGAAG
ATGGATGTAGTTGCAGATTCCAGAAGAAGAGGAGGGTGGGTGTGAACTTAGGGTG
AAGTTTAGTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAGAACCAACTCTAC
AATGAGCTGAATCTGGGGAGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAAGACGCGG
CCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGAAGGATTG
TACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAA
GGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCTTTCAACC
GCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACGCGGAAG
TGGAGCAACTAATTTTAGCCTTCTGAAACAAGCTGGCGATGTTGAGGAAAATCCTGG
GCCGATGTACAGGATGCAGCTGCTTTCTTGCATTGCACTGAGTTTGGCACTCGTCAC
CAACTCTGCCACATCAAATTGGGTAAACGTTATCAGCGATCTGAAGAAAATCGAGG
ATTTGATCCAGAGTATGCATATTGACGCAACCTTGTATACAGAATCTGATGTGCACC
CAAGCTGTAAAGTCACAGCTATGAAATGCTTTTTGCTGGAACCTCAAGTGATCTCCC
TCGAATCCGGCGATGCATCCATCCACGATACTGTGCGAAAACCTTATAATTTTGGCCA
ATAACAGCCTCAGCAGCAATGGCAACGTGACAGAGTCTGGGTGTAAGGAGTGTGAA
GAACTGGAGGAGAAAAATATTAAGAATTCCTGCAGTCCTTTGTACACATTGTGCA
AATGTTCAATTAACACTTCAAGTGGCGGCGGGAGCGGCGGGGGTGGTTCAGGTGGTG
GCGGCAGCGGTGGTGGGGGGTCTGGCGGGGGTAGTCTCAAATTACTTGTCTCCCC
CAATGAGCGTTGAACACGCCGACATTTGGGTCAAGTCTTATTACTGTACAGCCGAG
AAAGATATATCTGTAACCTCTGGATTTAAGCGCAAGGCCGGAACGTCTAGTCTGACTG
AGTGCGTGCTGAATAAGGCCACTAATGTTGCCCACTGGACTACCCCCAGCCTGAAGT
GTATTCGCGATCCTGCCCTTGGTGCACCAACGACCCGCGCCACCCAGCACAGTCACTA
CTGCCGGTGTGACTCCACAGCCCGAGTCTTTGTCCCCGAGCGGAAAGGAGCCCGCC
GCATCTTACCTTCTTCAAATAACACGGCCGCCACAACCGCTGCAATCGTCCCAGGT
AGTCAACTGATGCCCTCTAAAAGCCCCTCTACGGGGACAACCTGAGATAAGCAGCCA
CGAGTCTAGTCACGGCACACCAAGCCAGACTACCGCCAAAACCTGGGAGCTGACCG
CCTCTGCCTCACACCAACCACCAGGCGTGTATCCCCAGGGGCACAGCGACACCACT
GTGGCAATCAGCACCAGCACGGTACTGTTGTGCGGACTCTCTGCCGTGAGTCTGCTG
GCCTGCTACCTGAAATCCAGACAGACTCCCCCCTGGCCAGCGTGGAAATGGAAGC
TATGGAGGCTCTGCCCGTGACCTGGGGGACTAGCTCCAGAGATGAAGACTTGGAGA
ACTGCAGTCACCATCTCGGGTCCGGAGCCACGAATTTCTCTCTCCTCAAACAAGCTG

GGGATGTTGAGGAGAACCCTGGGCCAATGGCCCTCTTGCTCGCACTGTCCCTCCTGG
 TCCTGTGGACATCACCCGCCCCCACCTGTCCGGCACGAATGACGCAGAAGACTGCT
 GCCTGTCTGTACGCAGAAACCCATCCCCGGCTATATAGTGCGGAACTTCCATTACC
 TGCTGATCAAGGACGGATGTAGGGTGCCAGCCGTCGTCTTACCACCCTGCGAGGG
 CGCCAGCTGTGCGCTCCTCCTGACCAGCCCTGGGTGGAGCGGATCATTCAACGCTTG
 CAGCGCACCTCAGCAAAAATGAAAAGAAGAAGTAGT (SEQ ID NO: 39). В некоторых
 случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на
 около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях
 выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90%
 идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях выделенная
 молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную
 последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 39.

[133] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой
 кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается
 с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий sush15, и полинуклеотид, кодирующий
 CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует
 полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный
 последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPVLQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTTAPRPP
 TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
 NKRGRKLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG
 QNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE
 IGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEE
 NPGPMAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSYRER
 YICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPLKCIIRSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
 GGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES

GDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHVIVQMFINTSGS
 GATNFSLLKQAGDVEENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLSGTND AEDCCLSVTQKPIP
 GYIVRNFHYLLIKDGC RVP AVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS
 (SEQ ID NO: 15) (также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR-P2A-
 sushi15-P2A-CCL19 или P4-BB-sushi15-CCL19). В некоторых случаях выделенная
 молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный
 последовательности с SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях выделенная молекула
 нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 15. В некоторых
 случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из
 SEQ ID NO: 15.

[134] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой
 кислоты, кодирующая ssVH-P4-CAR-P2A-sushi15-P2A-CCL19 или P4-BB-sushi15-CCL19,
 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или
 100% идентичную последовательности с
 ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCCTCGTCGCAGCGGCCACTGGTGCCCATTC A
 CAAGTCCA ACTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACTCTCAG
 CCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGGA ACTG
 GATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCTATTATAGGT
 CCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAACCCTG
 A TACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCGAAGATACTG
 CTGTGTATTACTGTGCCCGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGTGTGGG
 GGCAGGGAACAACCGTTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCGGTGGA
 AGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAATCTTCT
 TCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGATCAGGC
 ATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAAGCCTGGATCACCGCCC
 CAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGGCGTGCC
 GAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCTCATCAG
 CGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTA TACTACTGCATGATTTGGCATAGCAGTG

CAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCCTCTCTCGCGCCGCGCTCCGA
CCACCACCCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCCAACCATTGCCAGCCAGCCTC
TCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATACTCGGG
GTCTCGATTTGCGCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTTGTGGCG
TTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTCTACTGTAATAAGAGGGGGAGGAAGAAAC
TCCTGTATATTTCAAACAACCCTTTATGCGCCCTGTCCAAACCACCCAGGAAGAAG
ATGGATGTAGTTGCAGATTCCAGAAGAAGAGGAGGGTGGGTGTGAACTTAGGGTG
AAGTTTAGTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAGAACCAACTCTAC
AATGAGCTGAATCTGGGGAGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAAGACGCGG
CCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGAAGGATTG
TACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAA
GGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCTTTCAACC
GCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACGCGGAAG
TGGAGCAACTAATTTTAGCCTTCTGAAACAAGCTGGCGATGTTGAGGAAAATCCTGG
GCCGATGGCACCTAGACGGGCACGCGGGTGTAGAACGCTGGGCCTCCCGCACTGT
TGTTGCTCTTGCTTCTGAGACCTCCCGCTACAAGGGGGATAACTTGCCCTCCACCTAT
GAGCGTCGAGCATGCTGACATTTGGGTGAAGTCCTATTCCTCTATTCCCGGGAGCG
GTACATCTGTA ACTCTGGATTCAAGAGGAAAGCCGGCACCAGCAGTCTGACCGAGT
GCGTGCTGAATAAGGCCACCAATGTGGCCCACTGGACAACCCCTAGCCTTAAATGT
ATACGGTCAGGGGGCGGATCTGGAGGCGGCGGCTCCGGTGGAGGCGGGAGTGGGG
GCGGGGGCTCTGGAGGTGGTAGCCTGCAGAATTGGGTAAACGTGATTAGCGACCTC
AAAAAATCGAAGATCTTATCCAGAGCATGCATATAGACGCAACCCTGTACACAGA
AAGCGATGTTACCCGTCCTGCAAGGTAACGGCTATGAAGTGTTTTCTTTTGGAGTT
GCAAGTCATATCACTGGAAAGTGGGGATGCCTCAATTCACGATACCGTGGAGAACC
TCATCATCCTCGCAAATAACAGCCTGAGCTCCAATGGCAATGTACAGAGTCAGGTT
GCAAAGAGTGTGAAGAGCTGGAAGAGAAAAACATCAAAGAGTTCCTCCAGTCATTT
GTGCACATTGTCCAGATGTTCACTAAGACTAGTGGTAGTGGTGCCACAAATTTTAGT
CTGTTGAAACAGGCCGGGGACGTCGAAGAAAACCCGGGGCCTATGGCCCTCTTGCT
CGCACTGTCCCTCCTGGTCCTGTGGACATCACCCGCCCCCACCTGTCCGGCACGAA
TGACGCAGAAGACTGCTGCCTGTCTGTACGCAGAAACCCATCCCCGGCTATATAGT
GCGGA ACTTCCATTACCTGCTGATCAAGGACGGATGTAGGGTGCCAGCCGTCGTCTT
CACCACCCTGCGAGGGCGCCAGCTGTGCGCTCCTCCTGACCAGCCCTGGGTGGAGC
GGATCATTCAACGCTTGCAGCGCACCTCAGCAAAAATGAAAAGAAGAAGTAGT

(SEQ ID NO: 40). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит

последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 40. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 40.

[135] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий mIL15/Ra-LSP. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLQSSSL ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTTAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC NKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDLGQGLSTATKDTYDALHMQALPPRSGATNFSLLKQAGDVEE NPGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLNHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLK KIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHTVENLIILAN NSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHVIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGG GSGGGSLQITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKAT NVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAA TTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGH S DTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLE NCSHHL (SEQ ID NO: 53) (также упоминаемый в данном документе как ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP -IL15пропептид-mIL15/Ra или ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный

последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 53.

[136] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A- IL15LSP-IL15пропептид-mIL15/Ra или ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGC CAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACATTGAG CTTGACTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAAGTGG ATTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTCCGACCTACTATCGGAG CAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAATCCTG ACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGACACA GCTGTGTAATAATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTG GGGCCAGGGAAGTACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGCGGCG GTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAAACCTGTGCTGACCCAGAGC AGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCGCTCC GGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCTCCCCT CCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGGTGTG CCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCCTGATC AGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAG CGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCCGCTGCACC TACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCCAAGTATCGCATCCCAACC ACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCG CGGACTTGATTTTGTCTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCTTGCCGGAAGTGTGGA GTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAAA CTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAA GATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTGCGAGT AAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTCCAGAACCAGCTCT ACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTAAGTACTCGACAAGAGAAG GGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGG CTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCAT GAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTTGTCT

ACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCCTCCCCGAGGC
TCAGGAGCCACCAACTTCTCCCTGCTGAAGCAGGCCGGCGACGTGGAGGAGAACCC
AGGTCCTATGAGAATCTCAAACCCCATCTTAGAAGCATCTCTATACAGTGTTATCT
GTGTCTCTTGCTGAACTCCCACCTTTTTGACAGAAGCTGGGATACATGTCTTTATCCTG
GGATGTTTTTCCGCCGGGCTCCCTAAAACCGAGGCCAACTGGGTAAACGTAATCTCA
GACCTTAAAAAGATTGAGGACCTGATTCAGTCAATGCATATCGATGCAACTTTGTAC
ACGGAGAGCGATGTTACCCAAGTTGTAAAGTGACCGCGATGAAATGTTTTCTCCTC
GAATTGCAGGTGATCTCCCTCGAGTCAGGCGACGCGTCTATCCACGATACTGTGGAA
AACCTTATCATTTTGGCGAACAATAGCCTCTCATCTAATGGTAACGTGACCGAGTCC
GGCTGCAAGGAATGTGAGGAACTGGAGGAGAAAAATATCAAGGAATTCCTGCAGTC
ATTTGTACACATCGTGCAAATGTTTATCAACACTTCTTCAGGAGGCGGGTCAGGAGG
GGGAGGCTCAGGCGGCGGAGGTAGTGGAGGAGGAGGAAGTGGAGGCGGCAGTCTC
CAGATCACCTGTCCACCACCAATGAGTGTGGAACACGCGGACATTTGGGTCAAGTC
ATATTCTCTTTACTCCAGAGAGCGATACATATGCAACAGTGGTTTCAAGCGGAAAGC
GGGTACTTCTTCACTTACCGAGTGCGTGCTCAATAAAGCAACCAACGTCGCGCACTG
GACAACACCTAGCCTGAAATGCATAAGAGATCCTGCCCTGGTTCACCAGCGGCCAG
CGCCACCGTCCACAGTGACAACAGCTGGTGTGACACCCCAGCCGGAGAGCCTTAGC
CCTAGCGGCAAAGAGCCGGCCGCAAGCTCACCAAGCTCAAATAACACAGCCGCGAC
AACTGCTGCTATCGTGCCCGGTTTACAATTGATGCCGAGCAAATCACCAAGCACCGG
AACTACCGAAATCTCAAGTCATGAAAGTAGTCACGGTACTCCTAGCCAGACGACGG
CAAAGAATTGGGAGCTGACTGCCTCTGCGAGCCACCAGCCGCGGGTGTTTACCCTC
AGGGGCATTCAGATACTACTGTGGCTATCTCTACTTCCACCGTCCTCTTGTGCGGCTT
GTCTGCTGTGTCTCTTCTGGCTTGCTATTTGAAAAGTAGACAGACACCACCCCTTGC
AAGTGTGAGATGGAAGCGATGGAGGCATTGCCTGTGACCTGGGGAACCAGTAGTA
GGGACGAGGACCTGGA AAATTGTAGTCACCACCTGTGA (SEQ ID NO: 58).

В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 58.

В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 58.

[137] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий sIL15-LSP. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY YCARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVTQSSSLSP ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEEN PGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAAGLPKTEANWVNVISDLKK IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNS LSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS (SEQ ID NO: 54) (также упоминаемый в данном документе как ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A- IL15LSP-IL15пропептид -IL15 или ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 54.

[138] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A- IL15LSP-IL15пропептид -IL15

или ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGC CAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACATTGAGC TTGACTTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAACTGG ATTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTCCGACCTACTATCGGAG CAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAATCCTG ACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGACACA GCTGTGTAATAATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTG GGGCCAGGGAACACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGCGGCG GTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAACCTGTGCTGACCCAGAGC AGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCGCTCC GGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCTCCCCT CCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGGTGTG CCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCCTGATC AGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAG CGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCGCTGCACC TACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCCAACC ACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCG CGGACTTGATTTTGCTTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCCTTGCCGGAACCTTGTGGA GTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAAA CTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAA GATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTGCGAGT AAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTCAGAACCAGCTCT ACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTAAGACTCGACAAGAGAAG GGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGG CTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCAT GAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTTGTCT ACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCTCCCCGAGGT TCAGGCGCAACAAATTTTCACTTCTTAAACAAGCTGGCGATGTCGAGGAAAACCCA GGTCCCATGCGGATCTCTAAACCCCACTTGCAGGAGCATTCTATCCAGTGTTATCTTT GCCTCCTGCTTAACTCCCACTTTCTCACAGAAGCAGGGATACACGTGTTATCCTGG GCTGTTTTTCTGCCGGTCTCCCCAAAACAGAAGCCAACCTGGGTGAATGTGATCAGTG ATCTTAAGAAAATAGAAGACCTCATCCAGTCAATGCACATCGATGCCACCTTGTACA CTGAGAGCGACGTGCACCCTTCTGCAAGGTGACAGCTATGAAGTGCTTCTGCTTG AGCTCCAGGTCATATCCCTTGAGTCTGGAGATGCAAGTATCCACGATACGGTGGA AACCCTTATTACTGGCCAATAATTCTCTTTCTTCCAATGGCAATGTTACCGAATCAG GGTGTAAGAGAGTGCAGAGAGCTGGAGGAGAAAAATATCAAAGAGTTTTTGCAGTCA TTTGTGCACATCGTCCAGATG TTTATTAATACAAGTTGA (SEQ ID NO: 59). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит

последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 59.

[139] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий mIL15/Ra-LSP, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYYGMDVWVGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEEN
 PGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAAGLPKTEANWVNVISDLKK
 IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNS
 LSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATNFSLLKQAGDVEEN
 PGPMAALLALSLLVLWTSPAPTLSGTND AEDCCLSVTQKPIPGYIVRNHFYLLIKDGRV
 PAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERI IQRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID NO: 55) (также
 упоминаемый в данном документе как ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-
 IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19). В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на
 около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях

выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 55.

[140] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A- IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19 содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с

ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCCTCGTCGCAGCGGCCACTGGTGCCCATTCACAAGTCCAACCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACTCTCAGCCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGGAACCTGGATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCTATTATAGGTCCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAACCCTGATACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCGAAGATACTGCTGTGTATTACTGTGCCCGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGTGTGGGGCAGGGAACAACCGTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCGGTGGAAGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAATCTTCTTCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGATCAGGCATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAAGCCTGGATCACCGCCSAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGGCGTGCCGAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCTCATCAGCGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTACTACTGCATGATTTGGCATAGCAGTGCAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCTCTCTCGCGCCCGCCGCTCCGACCACCACCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCCAACCATTGCCAGCCAGCCTCTCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATACTCGGGTCTCGATTTCCGCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTTGTGGCGTTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTCTACTGTAATAAGAGGGGGAGGAAGAAAC TCCTGTATATTTCAAACAACCCTTTATGCGCCCTGTCCAAACCACCCAGGAAGAAG

ATGGATGTAGTTGCAGATTCCCAGAAGAAGAGGAGGGTGGGTGTGAACTTAGGGTG
AAGTTTAGTTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAGAACCAACTCTAC
AATGAGCTGAATCTGGGGAGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAAGACGCGG
CCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGAAGGATTG
TACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAA
GGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCTTTCAACC
GCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACGCGGAAG
TGGAGCAACTAATTTTAGCCTTCTGAAACAAGCTGGCGATGTTGAGGAAAATCCTGG
GCCGATGCGCATTAGCAAGCCACATCTGAGGAGTATCAGCATCCAGTGCTACCTTTG
CCTGCTGCTCAACTCTCACTTTCTGACAGAAGCTGGCATCCACGTCTTCATCCTGGG
GTGCTTCAGCGCCGGCTTGCCGAAGACCGAAGCCAACTGGGTGAATGTGATCTCCG
ACCTCAAGAAGATCGAGGACCTGATCCAGAGTATGCATATTGATGCTACACTTTACA
CCGAGTCCGATGTTACCCCTAGTTGTAAGGTGACTGCCATGAAATGTTTCTTGCTGG
AGCTTCAGGTAATAAGCCTTGAGTCTGGGGATGCAAGCATTTCATGACACGGTTGAG
AATCTCATCATCCTGGCAAATAATCACTGTCTTCAAATGGTAACGTTACAGAGAGC
GGCTGTAAGGAGTGCGAAGAGCTTGAAGAGAAAAACATCAAGGAATTCCTCCAGAG
TTTCGTGCACATCGTGCAAATGTTTCATCAACACGAGCTCTGGAGGCGGATCAGGAG
GCGGAGGATCAGGGGGGGGAGGGTCAGGCGGAGGGGGATCTGGTGGAGGCAGCCT
TCAAATCACATGCCCGCCACCTATGTCCGTTGAGCACGCCGACATATGGGTGAAGTC
ATATCACTGTATAGTCGGGAGAGGTACATTTGTAATTCAGGTTTCAAGCGAAAAGC
TGGGACATCAAGCCTGACAGAATGCGTACTTAACAAGGCCACAAATGTCGCCCAT
GGACCACTCCGAGTCTGAAGTGTATAACGAGATCCCGCACTGGTGCACCAGCGACCT
GCTCCCCCTAGTACAGTAACAACCGCGGGCGTTACGCCCCAGCCTGAATCCCTGAGC
CCATCTGGCAAGGAGCCTGCAGCTAGCTCTCCGAGCAGCAATAATACTGCAGCGAC
CACTGCAGCCATCGTCCCCGGCTCCCAGCTCATGCCTAGTAAAAGTCCGTCTACAGG
AACGACCGAAATCTCCAGCCACGAGTCTAGTCACGGGACCCCGAGTCAGACCACTG
CCAAGAAGTGGGAGCTTACGGCCAGTGCCTCCCATCAACCCCGGGCGTCTACCCGC
AAGGCCATAGCGACACCACAGTCGCCATTAGCACATCTACTGTCCTCTTGTGCGGGC
TCTCCGCTGTGTCCCTCCTGGCCTGTTATCTCAAGAGCAGACAGACCCCCCATTGG
CAAGCGTTGAGATGGAGGCAATGGAGGCTCTGCCCGTTACTTGGGGGACTTCTTCAC
GCGACGAGGATCTGGGAACTGCTCCCACCACCTGGGAAGTGGTGCCACAAATTC
AGCCTGCTCAAGCAGGCCGGGGATGTTGAAGAGAACCCAGGGCCGATGGCCCTCTT
GCTCGCACTGTCCCTCCTGGTCCTGTGGACATCACCCGCCCCCACCCTGTCCGGCAC
GAATGACGCAGAAGACTGCTGCCTGTCTGTCACGCAGAAACCCATCCCCGGCTATAT
AGTGCGGAACTTCCATTACCTGCTGATCAAGGACGGATGTAGGGTGCCAGCCGTCGT
CTTACCACCCTGCGAGGGCGCCAGCTGTGCGCTCCTCCTGACCAGCCCTGGGTGGA
GCGGATCATTCAACGCTTGCAGCGCACCTCAGCAAAAATGAAAAGAAGAAGTAGTT
GA (SEQ ID NO: 60). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты
содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит

последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 60.

[141] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий sIL15-LSP, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности

с
 MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
 RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCARGMMTYYYGMDVWGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTTQSSSL
 ASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGS
 KDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLLSLVITLYCN
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEEN
 PGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAAGLPKTEANWVNVISDLKK
 IEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVENLILANNS
 LSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATNFSLLKQAGDVEEN
 PGPMAALLALSLLVLWTSPAPTLSTGND AEDCCLSVTQKPIPGYIVRNHFYLLIKDGRV
 PAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID NO: 56) (также
 упоминаемый в данном документе как ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-
 IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19). В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на
 около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях
 выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90%
 идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях выделенная

AATGAGCTGAATCTGGGGAGGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAAGACGCGG
 CCGCGACCCCGAGATGGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGAAGGATTG
 TACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAA
 GGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCTTTCAACC
 GCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGGCCCTCCCGCCACGCGGAAG
 TGGAGCAACTAATTTTAGCCTTCTGAAACAAGCTGGCGATGTTGAGGAAAATCCTGG
 GCCGATGCGCATCTCCAAGCCCCATCTGAGGAGCATCAGCATCCAGTGCTACCTGTG
 TCTGCTGCTCAACAGCCACTTCCTGACGGAAGCAGGCATTCATGTCTTTATCCTGGG
 ATGCTTTTCTGCCGGCCTGCCAAAGACAGAAGCAAACCTGGGTAAACGTTATCAGTGA
 TCTGAAAAAATCGAGGACCTGATCCAGTCCATGCATATTGACGCTACGCTGTATAC
 AGAGTCCGACGTCCACCCATCATGCAAGGTGACCGCTATGAAGTGTTTCTGCTGGA
 ACTGCAGGTTATCAGCTTGGAAGTGCGACGCTTCCATTCACGATACGGTGGAGA
 ACTTGATAATCCTTGCGAATAATAGTCTGAGCAGCAACGGCAACGTTACTGAAAGC
 GGGTGCAAAGAATGTGAAGAGCTCGAAGAGAAAAACATCAAAGAATTTTGCAGTC
 TTTCGTGCATATTGTTTCAAGATGTTTATTAACACCAGTGGATCAGGAGCAACTAATT
 CTCTCTTCTTAAGCAAGCTGGCGATGTAGAGGAAAACCCTGGGCCTATGGCCCTCTT
 GCTCGCACTGTCCCTCCTGGTCCTGTGGACATCACCCGCCCCCACCTGTCCGGCAC
 GAATGACGCAGAAGACTGCTGCCTGTCTGTCACGCAGAAACCCATCCCCGGCTATAT
 AGTGCGGAACCTCCATTACCTGCTGATCAAGGACGGATGTAGGGTGCCAGCCGTCGT
 CTTACCACCCTGCGAGGGCGCCAGCTGTGCGCTCCTCCTGACCAGCCCTGGGTGGA
 GCGGATCATTCAACGCTTGCAAGCGCACCTCAGCAAAAATGAAAAGAAGAAGTAGTT
 GA (SEQ ID NO: 61). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты
 содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID
 NO: 61. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит
 последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит
 последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит
 последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит
 последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит
 последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит
 последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В
 некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO:
 61.

[143] В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой
 кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается

с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий суши¹⁵, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях, выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLTSLTCAISGDSVSSNSATWNWIR
 QSPSRGLEWLGRITYYRSKQWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYC
 ARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPVLTSQSSLSASP
 GASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGSKD
 ASANAGVLLISGLRSEDEADYCYMIWHSSAAVFGGGTQTLTVLSRAAAIEVMYPPPYLDNE
 KSNGTIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRRL
 LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL
 NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR
 RGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRSGGATNFSLLKQAGDVEENPGMAPRR
 ARGCRTLGLPALLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKR
 KAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIIRSGSGGGGSGGGGSGGGGSLQNWVNVISD
 LKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDVTENLILA
 NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATNFSLLKQAGDV
 EENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLTSGTNDACCLSVTQKPIPGYIVRNFHYLLIKDG
 CRVPAVVFTTLRGRQLCAPDQPWVERIIRLQRTSAKMKRRSS (SEQ ID NO: 57)

(также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CD28hinge-TM-CD28cyto-CD3z-P2A-IL15Rasp-IL15Ra(sushi)-20аалинкерIL15-P2A-endospCCL19 или SSVHsp-P4-CD28-sushi¹⁵ -CCL19). В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 57.

ВЕКТОРЫ

[144] В некоторых вариантах осуществления один или более векторов включают

полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых вариантах осуществления вектор (например, вектор экспрессии) содержит молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8, внутриклеточную область 4-1BB и внутриклеточную область CD3 ζ ; полинуклеотид, кодирующий IL-15; и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19. См. ФИГ. 1А и ФИГ. 1В.

[145] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, и полинуклеотид, кодирующий IL-15, расположены в векторе (например, векторе экспрессии) от 5'-конца к 3'-концу следующим образом:

[146] полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий IL-15; или

[147] полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CAR.

[148] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, расположены в векторе (например, векторе экспрессии) от 5'-конца к 3'-концу следующим образом:

[149] полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CCL19;

[150] полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий IL-15;

[151] полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий CCL19;

[152] полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий CAR, - полинуклеотид, кодирующий IL-15;

[153] полинуклеотид, кодирующий IL-15, - полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий CAR; или

[154] полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий IL-15 - полинуклеотид, кодирующий CAR.

[155] В некоторых вариантах осуществления первый вектор (например, первый вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, а второй вектор (например, второй вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий IL-15.

[156] В некоторых вариантах осуществления первый вектор (например, первый вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, а второй вектор (например, второй вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, в которых полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, необязательно расположены во втором векторе (например, втором векторе экспрессии) от 5'-конца до 3'-конца, как полинуклеотид, кодирующий IL-15 - полинуклеотид, кодирующий CCL19, или полинуклеотид, кодирующий CCL19, - полинуклеотид, кодирующий IL-15.

[157] В дополнительных вариантах осуществления первый вектор (например,

первый вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, и либо полинуклеотид, кодирующий IL-15, либо полинуклеотид, кодирующий CCL19, а второй вектор (например, второй вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий IL-15 или полинуклеотид, кодирующий CCL19, не включенный в первый вектор. В некоторых вариантах осуществления первый вектор (например, первый вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, и полинуклеотид, кодирующий IL-15, а второй вектор (например, второй вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CCL19. В других вариантах осуществления первый вектор (например, первый вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, а второй вектор (например, второй вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий IL-15.

[158] В дополнительных вариантах осуществления первый вектор (например, первый вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, второй вектор (например, второй вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий IL-15, и третий вектор (например, третий вектор экспрессии) содержит полинуклеотид, кодирующий CCL19.

[159] В некоторых вариантах осуществления вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий mIL-15/Ra, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14 (также называемый в данном документе mIL15/Ra-P2A-CCL19). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 14. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 14.

[160] В некоторых вариантах осуществления вектор (например, вектор экспрессии),

описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий sushi15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31 (также упоминаемый в данном документе как sushi15-CCL19). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 31. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 31.

[161] В некоторых вариантах осуществления вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий mIL-15/Ra. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34 (также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra или P4-BB-mIL15/Ra). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98%

идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 34.

[162] В некоторых вариантах осуществления вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra или P4-BB-mIL15/Ra, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 37. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 37.

[163] В некоторых вариантах осуществления вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий sushi15. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35 (также упоминаемый в данном документе как ssVH-P4-CAR-P2A-sushi15 или P4-BB-sushi15). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96%

идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 35.

[164] В некоторых вариантах осуществления вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVH-P4-CAR-P2A-sushi15 или P4-BB-sushi15, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 38. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 38.

[165] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий mIL-15/Ra, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36 (также называемый в данном документе ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra-P2A-CCL19 или P4-BB-mIL15-CCL19). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях

последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 36.

[166] В некоторых вариантах осуществления, вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVH-P4-CAR-P2A-IL2sp-mIL15/Ra-P2A-CCL19 или P4-BB-mIL15-CCL19, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 39. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 39.

[167] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий sushi15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую

[169] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий mIL15/Ra-LSP. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53 (также называемый в данном документе ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-mIL15/Ra или SSVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 53.

[170] В некоторых вариантах осуществления, вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-mIL15/Ra или SSVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях

последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 58. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 58.

[171] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, и полинуклеотид, кодирующий sIL15-LSP. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54 (также называемый в данном документе ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-IL15 или SSVHsp-P4-BB-sIL15-LSP). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 54. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 54.

[172] В некоторых вариантах осуществления, вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-IL15 или SSVHsp-P4-BB-sIL15-LSP, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях

последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 59. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 59.

[173] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий mL15/Ra-LSP, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55 (также называемый в данном документе ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-mL15/Ra-LSP-CCL19). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 55.

[174] В некоторых вариантах осуществления, вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-

P2A- IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 60. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 60.

[175] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий sIL15-LSP, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56 (также называемый в данном документе ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A- IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99%

идентичный последовательности с SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 56. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 56.

[176] В некоторых вариантах осуществления, вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19, содержит последовательность на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 85% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 90% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 95% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 96% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 97% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 98% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность на около 99% идентичную последовательности с SEQ ID NO: 61. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты состоит из SEQ ID NO: 61.

[177] В некоторых вариантах осуществления, вектор (например, вектор экспрессии), описанный в настоящем документе, содержит полинуклеотид, кодирующий CAR, который специфически связывается с мезотелином, полинуклеотид, кодирующий sushi15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19. В некоторых случаях вектор (например, вектор экспрессии) содержит последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид на около 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57 (также называемой в данном документе ssVH-P4-CD28hinge-TM-CD28cyto-CD3z-P2A-IL15Rasp-IL15Ra(sushi)-20аалинкер-IL15-P2A-endospCCL19 или ssVHsp-P4-CD28-sushi15-CCL19). В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 85% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 90% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 95% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях

последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 96% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 97% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 98% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, на около 99% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 57. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 57.

[178] Векторы (например, векторы экспрессии) по настоящему изобретению могут содержать одну или более нуклеиновых кислот природного происхождения или искусственно синтезированных нуклеиновых кислот и могут быть соответствующим образом выбраны в соответствии с типом клеток, к которым применяются векторы (например, векторы экспрессии) в настоящем изобретении. Информацию об их последовательностях можно получить путем поиска в общеизвестном документе или в базе данных, такой как NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/).

[179] Вектор по настоящему изобретению может представлять собой вектор экспрессии, который вводят в иммунную клетку или ее клетку-предшественник путем приведения вектора в контакт с клеткой, так что закодированный в ней заранее определенный белок (полипептид) может быть экспрессирован в иммунной клетке с образованием модифицированной иммунной клетки настоящего изобретения. Вектор экспрессии по настоящему изобретению конкретно не ограничивается каким-либо вариантом осуществления. Специалисты в данной области техники способны разработать и произвести вектор экспрессии, который обеспечивает экспрессию желаемого белка (полипептида) в иммунных клетках. Примеры вектора экспрессии по настоящему изобретению, содержащего полинуклеотид, кодирующий молекулу клеточной поверхности, специфически распознающую мезотелин человека, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19, могут включать любой из векторов экспрессии для получения иммунных клеток по настоящему изобретению.

[180] Тип вектора экспрессии по настоящему изобретению может представлять собой линейную форму или кольцевую форму и может представлять собой невирусный вектор, такой как плазида, может быть вирусным вектором или может представлять собой вектор на основе транспозона. Такой вектор может содержать контрольную последовательность, такую как промотор или терминатор, или селективную маркерную последовательность, такую как ген устойчивости к лекарственному средству или репортерный ген. Полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, могут быть функционально расположены ниже последовательности промотора,

так что каждый из полинуклеотидов может быть эффективно транскрибирован.

[181] Примеры промотора могут включать: промотор вирусного происхождения, такой как промотор LTR ретровируса, ранний промотор SV40, промотор цитомегаловируса и промотор тимидинкиназы вируса простого герпеса; и промотор млекопитающего, такой как промотор фосфоглицераткиназы (PGK), промотор Xist, промотор β -актина и промотор РНК-полимеразы II. В некоторых вариантах осуществления, промотор предпочтительно может включать промотор LTR ретровируса. Промотор LTR ретровируса может содержать

CTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCGGCTCAGGG
 CCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAG
 TTCCTGCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCA
 GCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGAC
 CCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTCGCGCGCTTC
 TGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCCTCC
 GATTGACTGAGTCGCCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCCTCTTGCAGTTGCATC
 CGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCCTGGGAGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTC
 AGCGGGGGTCTTTCA. Альтернативно можно использовать чувствительный к тетрациклину промотор, индуцируемый тетрациклином, промотор Mx1, индуцируемый интерфероном, или тому подобное. Использование промотора, который индуцируется конкретным веществом в векторе экспрессии по настоящему изобретению, позволяет контролировать индукцию экспрессии IL-15 и, необязательно, экспрессии CCL19 в соответствии с курсом лечения рака, например, когда иммунная клетка, содержащая вектор настоящего изобретения используется в качестве фармацевтической композиции для применения при лечении рака.

[182] Примеры вирусного вектора могут включать ретровирусный вектор, лентивирусный вектор, аденовирусный вектор и аденоассоциированный вирусный вектор и предпочтительно могут включать ретровирусный вектор, предпочтительно гамма-ретровирусный вектор, более предпочтительно вектор pMSGV (Tamada k et al., Clin Cancer Res 18: 6436-6445 (2002)), вектор pMSCV (производимый Takara Bio Inc.) или вектор pSFG. Использование ретровирусного вектора обеспечивает долговременную и стабильную экспрессию трансгена, поскольку трансген интегрирован в геном клетки-хозяина.

[183] Для подтверждения содержания вектора экспрессии настоящего изобретения в иммунной клетке можно использовать один или более анализов. Типичные анализы могут включать проточную цитометрию для скрининга экспрессии CAR сконструированными иммунными клетками, нозерн-блоттинг, саузерн-блоттинг, ПЦР, такую как РВ-ПЦР, ИФА или вестерн-блоттинг. В некоторых вариантах осуществления, вектор экспрессии дополнительно содержит маркерный ген (например, кодирующий флуоресцентный белок, такой как зеленый флуоресцентный белок (GFP), красный флуоресцентный белок (RFP) или желтый флуоресцентный белок (YFP)) для обнаружения

экспрессии CAR, IL-15 и/или CCL19 иммунной клеткой.

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ

[184] В некоторых вариантах осуществления, описанная в данном документе иммунная клетка модифицирована для экспрессии молекулы клеточной поверхности, которая специфически распознает мезотелин (например, мезотелин человека), IL-15 и, необязательно, CCL19 (Фиг. 1C и Фиг. 1D). Типичные иммунные клетки могут включать лимфоидную клетку, такую как Т-клетка, естественную клетку-киллер (NK-клетка) и В-клетку, антигенпрезентирующую клетку, такую как моноцит, макрофаг, дендритную клетку или гранулоцит, такой как нейтрофил, эозинофил, базофил или тучная клетка. Иммунные клетки могут быть получены из стволовой клетки, например, индуцированной плюрипотентной стволовой клетки (iPSC), эмбриональной стволовой клетки (ESC), гемопоэтической клетки-предшественника, полученной из ESC (HPC), или гомогенной эндотелиальной клетки (HEC). Иммунная клетка может включать Т-клетку, полученную от млекопитающего, такого как человек, собака, кошка, свинья или мышь, предпочтительно Т-клетку, полученную или выделенную из человека. Иммунная клетка (например, Т-клетка) может быть получена путем культивирования, например, культивирования *ex vivo*, или собрана непосредственно у млекопитающего. Иммунная клетка не ограничена, пока клетка участвует в иммунном ответе и может экспрессировать молекулу клеточной поверхности, которая специфически распознает мезотелин (например, мезотелин человека), экспрессирует IL-15 и необязательно экспрессирует CCL19. Иммунная клетка может представлять собой аутологичную клетку, полученную от субъекта, нуждающегося в этом, для последующего лечения. Иммунная клетка также может представлять собой аллогенную клетку или сингенную клетку для субъекта, нуждающегося в этом.

[185] В некоторых вариантах осуществления, иммунную клетку дополнительно модифицируют для ослабления или облегчения воспаления или иммунного ответа у субъекта вследствие введения иммунной клетки субъекту. В некоторых случаях воспаление или иммунный ответ представляют собой реакцию «трансплантат против хозяина» (GvHD), и иммунная клетка дополнительно модифицируется для ослабления или улучшения GvHD.

[186] В некоторых случаях иммунную клетку модифицируют, чтобы ослабить или устранить экспрессию альфа-цепи и/или бета-цепи Т-клеточного рецептора (TCR). В некоторых случаях иммунную клетку модифицируют, чтобы ослабить или устранить экспрессию альфа-цепи и бета-цепи TCR (TCR α/β). В некоторых случаях иммунная клетка не экспрессирует альфа-цепь и бета-цепь TCR (TCR α/β). В некоторых случаях один или более дополнительных доменов CD3 (например, CD3-дельта, CD3-гамма или CD3-эпсилон) модифицируются, чтобы нарушить функцию TCR α/β .

[187] В некоторых случаях иммунная клетка экспрессирует рецептор гамма-дельта Т-клеток (gdTCR или $\gamma\delta$ TCR). $\gamma\delta$ Т-клетки представляют собой подгруппу Т-клеток и составляют около 0,5-5% всех Т-лимфоцитов. Было показано, что при раке $\gamma\delta$ Т-клетки

проявляют как проопухолевую, так и противоопухолевую активность на основе комбинаторных подгрупп γ - и δ -рецепторов, представленных на поверхности клетки. Например, $\gamma\delta$ Т-клетка, экспрессирующая TCR, содержащую варибельную область 9 γ -цепи ($V\gamma 9$) и варибельную область 2 δ -цепи ($V\delta 2$), также называемая Т-клетками $V\gamma 9V\delta 2$, проявляет противоопухолевую активность, включая, помимо прочего, ингибирование пролиферации раковых клеток, ангиогенез, лимфангиогенез и увеличение апоптоза раковых клеток. Примеры γ TCR включают $V\gamma 1$ TCR, $V\gamma 2$ TCR, $V\gamma 3$ TCR, $V\gamma 4$ TCR, $V\gamma 5$ TCR, $V\gamma 6$ TCR, $V\gamma 7$ TCR, $V\gamma 8$ TCR и $V\gamma 9$ TCR, и примеры δ TCR включают $V\delta 1$ TCR, $V\delta 2$ TCR, $V\delta 3$ TCR, $V\delta 4$ TCR, $V\delta 5$ TCR, $V\delta 6$ TCR, $V\delta 7$ TCR, $V\delta 8$ TCR и $V\delta 9$ TCR. Хотя комбинация конкретных γ TCR и δ TCR не ограничена, например, предполагаются $\gamma 3V\delta 1$ TCR, $V\gamma 4V\delta 1$ TCR, $V\gamma 9V\delta 1$ TCR и $V\gamma 9V\delta 2$ TCR. В некоторых случаях иммунная клетка экспрессирует $V\gamma 9$ TCR, $V\delta 2$ TCR или $V\gamma 9V\delta 2$ TCR.

[188] В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку, экспрессирующую рецептор гамма-дельта Т-клеток (gdTCR или $\gamma\delta$ TCR), получают из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC). В некоторых случаях iPSC образуются из клетки, отличной от $\alpha\beta$ Т-клетки. В некоторых случаях iPSC дополнительно модифицируют путем вставки гена $V\gamma 9V\delta 2$ в геном iPSC перед дифференцировкой в клетки $\gamma\delta$ TCR. В некоторых случаях ген $V\gamma 9V\delta 2$ кодирует полипептид по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 44. В некоторых случаях ген $V\gamma 9V\delta 2$ кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 44.

[189] В некоторых вариантах осуществления, клетка $\gamma\delta$ TCR, описанная в настоящем документе, модифицирована для экспрессии CAR, который специфически распознает мезотелин, и для экспрессии IL-15. В некоторых случаях клетка $\gamma\delta$ TCR дополнительно модифицируется для экспрессии CCL19. В некоторых случаях клетка $\gamma\delta$ TCR дифференцируется из iPSC, модифицированных геном $V\gamma 9V\delta 2$. В некоторых случаях клетка $\gamma\delta$ TCR дифференцируется от iPSC, модифицированных геном $V\gamma 9V\delta 2$, кодирующим полипептид на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичный последовательности с SEQ ID NO: 44. В некоторых случаях клетка $\gamma\delta$ TCR дифференцируется от iPSC, модифицированных геном $V\gamma 9V\delta 2$, кодирующим полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 44.

[190] В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе раскрыта популяция иммунных клеток, модифицированная для экспрессии CAR, который специфически распознает мезотелин и IL-15. В некоторых случаях популяция иммунных клеток дополнительно экспрессирует CCL19. В некоторых вариантах осуществления, популяция иммунных клеток включает модифицированные Т-клетки (например, размноженные *ex vivo* или полученные от млекопитающего), которые экспрессируют CAR, специфически распознающий мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19. Популяция иммунных клеток может включать около 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более высокий процент модифицированных Т-клеток. Популяция иммунных клеток

может включать около 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95% модифицированных Т-клеток. Популяция иммунных клеток может включать по существу чистую популяцию модифицированных Т-клеток. Типичные Т-клетки могут включать альфа-бета Т-клетку, гамма-дельта Т-клетку, CD8⁺ Т-клетку, CD4⁺Т-клетку, Т-клетку, инфильтрирующую опухоль, Т-клетку памяти, наивную Т-клетку и натуральную Т-киллер (НКТ).

[191] В некоторых вариантах осуществления, популяция иммунных клеток, модифицированных для экспрессии CAR, который специфически распознает мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19, составляет менее чем около 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или менее загрязняющих клеток. В настоящем документе термин «загрязняющие клетки» относится к клеткам, которые не экспрессируют CAR, который специфически распознает мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19. Загрязняющие клетки могут включать Т-клетки, которые не экспрессируют CAR, специфически распознающие мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19, а также другие типы иммунных клеток, которые не экспрессируют CAR, специфически распознающие мезотелин, IL-15 и, необязательно, CCL19. Загрязняющие клетки могут также относиться к неиммунным клеткам из жидкости организма, такой как кровь или жидкость костного мозга, полученным из такой ткани, как ткань селезенки, вилочковая железа или лимфатический узел, или полученным из раковой ткани, такой как первичная опухолевая ткань, метастатическая опухолевая ткань или ракового асцит.

[192] Примеры способа получения иммунной клетки по настоящему изобретению могут включать способ производства введения полинуклеотида, кодирующего молекулу клеточной поверхности, полинуклеотида, кодирующего IL-15, и необязательно полинуклеотида, кодирующего CCL19, в иммунную клетку. Способ производства может включать способ производства, как описано, например, в WO2016/056228, WO2017/159736, WO2013/176915, WO2015/120096, WO2016/019300 или Vormittag P et al, Curr Opin Biotechnol 2018; 53: 164-81. Альтернативные примеры могут включать способ очистки и получения иммунных клеток из трансгенного млекопитающего, полученных путем имплантации вектора для экспрессии молекулы клеточной поверхности, специфически распознающей мезотелин (например, мезотелин человека) и/или IL-15, и дополнительно, необязательно, CCL19 в оплодотворенную яйцеклетку, и способ получения дальнейшего введения, при необходимости, вектора для экспрессии молекулы клеточной поверхности, специфически распознающей мезотелин (например, мезотелин человека) и/или IL-15, и дополнительно, необязательно, CCL19 в иммунную клетку, очищенную и получен от трансгенного млекопитающего.

[193] В случае введения полинуклеотида, кодирующего молекулу клеточной поверхности, полинуклеотида, кодирующего IL-15, и необязательно полинуклеотида, кодирующего CCL19, или векторов, описанных *supra*, способ может представлять собой любой способ введения полинуклеотидов или векторов в иммунную клетку. Примеры могут включать способ электропорации (Cytotechnology, 3, 133 (1990)), способ с фосфатом

кальция (публикация нерассмотренной японской патентной заявки № 2-227075), способ с липофекцией (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413 (1987)), и способ вирусной инфекции. Типичные способы вирусной инфекции могут включать способ трансфекции упаковочной клетки, такой как клетка GP2-293 (производимая Takara Bio Inc.), клетка Plat-GP (производимая Cosmo Bio Co., Ltd.), клетка PG13 (ATCC CRL-10686) или клетка PA317 (ATCC CRL-9078) с вектором для введения и упаковывающей плазмидой для получения рекомбинантного вируса и инфицирования иммунной клетки рекомбинантным вирусом (см., например, WO2017/159736).

[194] В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение одного или более векторов, содержащих полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение вектора (например, вектора экспрессии), содержащего молекулу нуклеиновой кислоты, содержащую полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8, внутриклеточную область 4-1BB и внутриклеточную область CD3 ζ ; полинуклеотид, кодирующий IL-15; и необязательно полинуклеотид, кодирующий CCL19 в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение первого вектора (например, первого вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CAR, и второго вектора (например, второго вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий IL-15, либо вместе, либо поэтапно, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение первого вектора (например, первого вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CAR, и второго вектора (например, второго вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, либо вместе, либо поэтапно, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение первого вектора (например, первого вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CAR, и либо полинуклеотид, кодирующий IL-15, либо полинуклеотид, кодирующий CCL19, и второго вектора (например, второй вектор экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий IL-15, или полинуклеотид, кодирующий CCL19, который не включен в первый вектор, либо вместе, либо поэтапно, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение первого вектора (например, первого вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CAR, и полинуклеотид, кодирующий IL-15, и второго вектора (например, второго вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CCL19, либо вместе, либо поэтапно, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение первого вектора (например, первого вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CAR, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, и второго вектора (например, второго вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид,

кодирующий IL-15, либо вместе, либо поэтапно, в иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение первого вектора (например, первого вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CAR, второго вектора (например, второго вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий IL-15, и третьего вектора (например, третьего вектора экспрессии), содержащего полинуклеотид, кодирующий CCL19, либо вместе, либо поэтапно, в иммунную клетку.

[195] Один или более полинуклеотидов, кодирующих CAR, полинуклеотидов, кодирующих IL-15, и полинуклеотидов, кодирующих CCL19, можно интегрировать в геном иммунной клетки. В некоторых вариантах осуществления, полинуклеотид, кодирующий CAR, полинуклеотид, кодирующий IL-15, и полинуклеотид, кодирующий CCL19, не интегрированы в геном (например, эписомально).

СПОСОБЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

[196] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе раскрыт способ лечения рака, экспрессирующего мезотелин. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту иммунной клетки, описанной в настоящем документе, модифицированной для экспрессии сконструированной молекулы клеточной поверхности, которая специфически связывается с мезотелином, интерлейкином 15 (IL-15) и, необязательно, хемокиновым (C-C-мотив) лигандом 19 (CCL19). В некоторых вариантах осуществления, иммунная клетка модифицирована для экспрессии сконструированной молекулы клеточной поверхности, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), который специфически распознает мезотелин, или T-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с мезотелином. В некоторых вариантах осуществления, иммунная клетка модифицирована для экспрессии CAR, содержащего антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8, внутриклеточную область 4-1BB и внутриклеточную область CD3 ζ ; IL-15; и необязательно CCL19.

[197] В некоторых вариантах осуществления, рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления, солидная опухоль включает мезотелиому, колоректальный рак, рак поджелудочной железы, рак тимуса, рак желчных протоков, рак легких, рак кожи, рак молочной железы, рак простаты, рак мочевого пузыря, виргинальное рак, рак шеи, рак матки, рак печени, рак почки, рак желудка, рак селезенки, рак трахеи, рак бронхов, рак желудка, рак пищевода, рак желчного пузыря, рак яичек, рак яичников или рак костей. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующее мезотелин, представляет собой мезотелиому. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой рак легких (например, немелкоклеточный рак легких (НМРЛ), мелкоклеточный рак легких (МРЛ), карциноидные опухоли легких, аденосквамозную карциному легких, крупноклеточную

нейроэндокринную карциному или карциному легких типа слюнных желез). В некоторых вариантах осуществления рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой НМРЛ (например, аденокарциному легкого, плоскоклеточную карциному, крупноклеточную недифференцированную карциному, саркоматоидную карциному или аденосквамозную карциному).

[198] Рак, экспрессирующий мезотелин, может представлять собой гемопоэтический рак. Гемопоэтический рак может представлять собой В-клеточный кроветворный рак, Т-клеточный кроветворный рак, лимфому Ходжкина или неходжкинскую лимфому. Гемопоэтический рак может представлять собой острый лимфоцитарный лейкоз (ОЛЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), малую лимфоцитарную лимфому (МЛЛ), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДКБКЛ), фолликулярную лимфому (ФЛ), лимфому мантийных клеток (МКЛ), лимфому маргинальной зоны, лимфому Беркитта или макроглобулинемию Вальденстрема.

[199] Рак кроветворения может быть саркомой. Саркома может включать хондросаркому, саркому Юинга, злокачественную гемангиоэндотелиому, злокачественную шванному, остеосаркому или саркому мягких тканей.

[200] Рак, экспрессирующий мезотелин, может представлять собой метастатический рак, например, метастатическую солидную опухоль или метастатическое гемопоэтический рак. Метастатический рак, экспрессирующий мезотелин, может представлять собой метастатический рак яичников, метастатическую мезотелиому, метастатический рак желудка или метастатический рак легких (например, метастатический НМРЛ).

[201] Рак, экспрессирующий мезотелин, может представлять собой рецидивирующий или рефрактерный рак, например, рецидивирующую или рефрактерную солидную опухоль, или рецидивирующий или рефрактерный гемопоэтический рак. Рецидивирующий или рефрактерный рак, экспрессирующий мезотелин, может представлять собой рецидивирующий или рефрактерный рак яичников, рецидивирующую или рефрактерную мезотелиому, рецидивирующий или рефрактерный рак желудка или рецидивирующий или рефрактерный рак легких (например, рецидивирующий или рефрактерный НМРЛ).

[202] В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает введение субъекту дополнительного терапевтического агента или дополнительной терапевтической схемы. Дополнительный терапевтический агент может включать химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент, таргетную терапию, лучевую терапию или их комбинацию. Иллюстративные дополнительные терапевтические агенты включают, помимо прочего, алкилирующие агенты, такие как алтретамин, бусульфан, карбоплатин, кармустин, хлорамбуцил, цисплатин, циклофосфамид, дакарбазин, ломустин, мелфалан, оксалиплатин, темозоломид или тиотепу; антиметаболиты, такие как 5-фторурацил (5-ФУ), 6-меркаптопурин (6-МП), капецитабин, цитарабин, флоксуридин, флударабин, гемцитабин, гидроксимочевину, метотрексат или

пеметрексед; антрациклины, такие как даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин или идарубицин; ингибиторы топоизомеразы I, такие как топотекан или иринотекан (СРТ-11); ингибиторы топоизомеразы II, такие как этопозид (VP-16), тенипозид или митоксантрон; митотические ингибиторы, такие как доцетаксел, эстрамустин, иксабепилон, паклитаксел, винбластин, винкристин или винорелбин; или кортикостероиды, такие как преднизон, метилпреднизолон или дексаметазон.

[203] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент включает терапию первой линии. Используемый в настоящем документе термин «терапия первой линии» включает первичное лечение субъекта, больного раком. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой первичный рак. В других вариантах осуществления, рак представляет собой метастатический или рецидивирующий рак. В некоторых вариантах осуществления, терапия первой линии включает химиотерапию. В других вариантах осуществления, терапия первой линии включает лучевую терапию. Квалифицированный специалист в данной области техники легко поймет, что разные способы лечения первой линии могут быть применимы к разным типам рака.

[204] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент содержит ингибитор фермента поли-АДФ-рибозо-полимеразы (PARP). Типичные ингибиторы PARP включают, помимо прочего, олапариб (AZD-2281, Lynparza®, от Astra Zeneca), рукапариб (PF-01367338, Rubraca®, от Clovis Oncology), нирапариб (MK-4827, Zejula®, от Tesaro), талазопариб (BMN-673, от BioMarin Pharmaceutical Inc.), велипариб (ABT-888, от Abb Vie), СК-102 (ранее CEP 9722, от Teva Pharmaceutical Industries Ltd.), E7016 (от Eisai), инипариб (BSI 201 от Sanofi) и памипариб (BGB-290 от BeiGene).

[205] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент содержит ингибитор иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления, ингибитор контрольной точки включает пембролизумаб, ниволумаб, тремелимумаб или ипилимумаб. В некоторых вариантах осуществления, ингибитор контрольной точки содержит ингибитор PD-L1, PD-L2, PD-1, CTLA-4, LAG3, B7-H3, KIR, CD137, PS, TFM3, CD52, CD30, CD20, CD33, CD27, OX40, GITR, ICOS, BTLA (CD272), CD160, 2B4, LAIR1, TIGIT, LIGHT, DR3, CD226, CD2 или SLAM. Ингибитор может представлять собой антитело или его фрагменты (например, моноклональное антитело, человеческое, гуманизированное или химерное антитело), молекулу РНКи или малую молекулу.

[206] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент содержит антитело, такое как алемтузумаб, трастузумаб, ибритумомаб тиуксетан, брентуксимаб ведотин, адо-трастузумаб эмтанзин или блинатумомаб.

[207] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент содержит цитокин. Типичные цитокины включают, помимо прочего, IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-21 или TNF α .

[208] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический

агент содержит агонист рецептора. В некоторых вариантах осуществления, агонист рецептора содержит лиганд Toll-подобного рецептора (TLR). В некоторых вариантах осуществления, лиганд TLR содержит TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 или TLR9. В некоторых вариантах осуществления, лиганд TLR содержит синтетический лиганд, такой как, например, Pam3Cys, CFA, MALP2, Pam2Cys, FSL-1, Hib-OMPС, Poly I:C, поли A:U, AGP, MPL A, RC- 529, MDF2p, CFA или флагеллин.

[209] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент включает флударабин и циклофосфамид.

[210] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический агент включает тисагенлеклейцел (KYMRIAН®), аксикабтаген цилолеуцел (YESCARTA®) или брексукабтаген аутолейцел (TECARTUS®).

[211] В некоторых вариантах осуществления, дополнительный терапевтический режим включает хирургическое вмешательство.

[212] В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию и дополнительный терапевтический агент вводят одновременно.

[213] В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию и дополнительный терапевтический агент вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию вводят субъекту до введения дополнительного терапевтического агента. В других вариантах осуществления, описанную в настоящем документе иммунную клетку или описанную в настоящем документе фармацевтическую композицию вводят субъекту после введения дополнительного терапевтического агента.

[214] В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек.

[215] В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе также описан способ получения иммунных клеток, экспрессирующих молекулы клеточной поверхности, которые специфически распознают мезотелин (например, мезотелин человека), IL-15 и, необязательно, SCL19. Способ включает введение молекулы нуклеиновой кислоты, описанной в настоящем документе, или вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты, в иммунную клетку для индукции экспрессии молекул клеточной поверхности, которые специфически распознают мезотелин человека, IL-15 и, необязательно, SCL19 иммунной клеткой. В некоторых вариантах осуществления, иммунная клетка представляет собой Т-клетку, естественную клетку-киллер (NK), В-клетку, антигенпрезентирующую клетку или гранулоцит, необязательно Т-клетку или NK-клетку.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

[216] В некоторых вариантах осуществления, описанные выше иммунные клетки составляют в виде фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическую композицию вводят субъекту несколькими путями

введения, включая, помимо прочего, парентеральный, пероральный, сублингвальный или чрескожный пути введения. В некоторых вариантах осуществления, парентеральное введение включает внутривенное, подкожное, внутримышечное, интраназальное, внутриартериальное, внутрисуставное, внутрикожное, внутрикостное введение, внутрибрюшинное, субарахноидальное, внутричерепное, внутрисиновиальное, внутриопухолевое, внутрикожное, интрамедуллярное, внутрисердечное или интратекальное введение. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция составлена для местного введения. В других вариантах осуществления, фармацевтическая композиция составлена для системного введения.

[217] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемую добавку. Примеры добавок могут включать физиологический раствор, забуференный физиологический раствор, среду для культивирования клеток, декстрозу, воду для инъекций, глицерин, этанол, стабилизатор, солюбилизатор, поверхностно-активное вещество, буфер, антисептик, агент, регулирующий тоничность, наполнитель, смазку, или их комбинацию.

[218] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция дополнительно содержит агенты, регулирующие pH, или буферные агенты, которые включают кислоты, такие как уксусная, борная, лимонная, молочная, фосфорная и соляная кислоты, основания, такие как гидроксид натрия, фосфат натрия, борат натрия, цитрат натрия, ацетат натрия, лактат натрия и трис-гидрокси-метиламинометан, и буферы, такие как цитрат/декстроза, бикарбонат натрия и хлорид аммония. Такие кислоты, основания и буферы включены в количестве, необходимом для поддержания pH композиции в приемлемом диапазоне.

[219] В некоторых вариантах осуществления, фармацевтическая композиция включает одну или более солей в количестве, необходимом для приведения осмоляльности композиции в приемлемый диапазон. Такие соли включают соли, содержащие катионы натрия, калия или аммония и хлоридные, цитратные, аскорбатные, боратные, фосфатные, бикарбонатные, сульфатные, тиосульфатные или бисульфитные анионы, подходящие соли включают хлорид натрия, хлорид калия, тиосульфат натрия, бисульфит натрия и сульфат аммония.

[220] В примерном способе фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить независимо одной порцией или несколькими разделенными порциями 4 раза, 3 раза, дважды или один раз в день, в 1-дневный, 2-дневный, 3-дневный, 4-дневный или 5-дневный интервал, один раз в неделю, с 7-дневным, 8-дневным или 9-дневным интервалом, два раза в неделю, один раз в месяц, два раза в месяц, три раза в месяц или чаще.

[221] В случае улучшения состояния пациента по усмотрению врача введение композиции проводят непрерывно, альтернативно, дозу вводимой композиции временно уменьшают или временно приостанавливают на определенный период времени (т.е. «день отдыха»). В некоторых вариантах осуществления, продолжительность отдыха в приеме

препарата варьируется от 2 дней до 1 года, включая только в качестве примера: 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 10 дней, 12 дней, 15 дней, 20 дней, 28 дней, 35 дней, 50 дней, 70 дней, 100 дней, 120 дней, 150 дней, 180 дней, 200 дней, 250 дней, 280 дней, 300 дней, 320 дней, 350 дней или 365 дней. Снижение дозы во время отдыха в приеме препарата составляет от 10% до 100%, включая, в качестве примера, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

[222] В некоторых вариантах осуществления, количество данной CAR-T-клетки, соответствующее такому количеству, варьируется в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания и личность (например, вес) субъекта или хозяина, нуждающегося в лечении, но тем не менее, обычно определяется способом, известным в данной области техники, в соответствии с конкретными обстоятельствами конкретного случая, включая, например, конкретный вводимый агент, путь введения и субъекта или хозяина, подвергающегося лечению. В некоторых вариантах осуществления, желаемая доза удобно представлена в виде разовой дозы или в виде разделенных доз, вводимых одновременно (или в течение короткого периода времени) или через соответствующие интервалы, например, в виде двух, трех, четырех или более субдоз в день.

[223] Вышеупомянутые диапазоны являются лишь ориентировочными, поскольку количество переменных, касающихся индивидуального режима лечения, велико, и значительные отклонения от этих рекомендуемых значений не являются редкостью. Такие дозировки изменяются в зависимости от ряда переменных, не ограничиваясь активностью используемого соединения, заболеванием или состоянием, подлежащим лечению, способом введения, потребностями отдельного субъекта, тяжестью заболевания или состояния, подлежащего лечению и мнения практикующего врача.

[224] В некоторых вариантах осуществления, токсичность и терапевтическую эффективность таких терапевтических схем определяют с помощью стандартных фармацевтических процедур на клеточных культурах или экспериментальных животных, включая, помимо прочего, определение LD50 (дозы, летальной для 50% популяции) и ED50 (доза, терапевтически эффективная у 50% населения). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс и выражается как соотношение между LD50 и ED50. Предпочтительны соединения, демонстрирующие высокие терапевтические индексы. Данные, полученные в результате анализов на клеточных культурах и исследований на животных, используются при определении диапазона доз для применения у человека. Дозировка таких соединений предпочтительно находится в диапазоне циркулирующих концентраций, включающих ED50 с минимальной токсичностью. Дозировка варьируется в этом диапазоне в зависимости от используемой лекарственной формы и используемого пути введения.

КОМПЛЕКТЫ/ИЗДЕЛИЯ ПРОИЗВОДСТВА

[225] В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе раскрыт набор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, описанную выше, вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, описанную выше, иммунную клетку,

экспрессирующую CAR, которая специфически распознает мезотелин (например, мезотелин человека), IL-15 и, необязательно, CCL19 или фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления, набор может содержать один или более упаковочных материалов, таких как вкладыш, этикетка, упаковка и т.п. с указанием способа применения и т.п. для применения при лечении рака. Поскольку иммунная клетка в фармацевтической композиции по настоящему изобретению оказывает подавляющее действие на рецидив опухоли, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может служить фармацевтической композицией для применения при подавлении рецидива опухоли. Такая фармацевтическая композиция для применения при подавлении рецидива опухоли может содержать один или более упаковочных материалов, таких как вкладыш, этикетка, упаковка и т.п. с указанием способа применения и т.п. для применения при подавлении рецидива опухоли.

[226] Термин «упаковочный материал» относится к физической конструкции, в которой находится компонент набора. Материал может сохранять компоненты стерильными и может быть изготовлен из материала, обычно используемого для таких целей (*например*, бумаги, гофрированного волокна, стекла, пластика, фольги, ампул, флаконов, пробирок и т.д.).

[227] Наборы по изобретению могут включать этикетки или вкладыши. Этикетки или вкладыши включают «печатные материалы», например, бумагу или картон, либо отдельные или прикрепленные к компоненту, набору или упаковочному материалу (например, коробке), либо прикрепленные к ампуле, тубе или флакону, содержащим компонент набора. Этикетки или вкладыши могут дополнительно включать считываемый компьютером носитель, такой как диск (например, гибкая дискета, ZIP-диск), оптический диск, такой как CD- или DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, магнитная лента или электрический носитель информации, такие как RAM и ROM или их гибриды, такие как магнитные/оптические носители данных, FLASH-носители или карты памяти.

[228] Этикетки или вкладыши могут включать идентификационную информацию об одном или более компонентах (например, связывающем агенте или фармацевтической композиции), количестве доз, клинической фармакологии активного агента(ов), включая механизм действия, фармакокинетику и фармакодинамику. Этикетки или вкладыши могут содержать информацию, идентифицирующую информацию о производителе, номера партий, а также место и дату производства.

[229] Этикетки или вкладыши могут содержать информацию о заболевании, для лечения которого можно использовать компонент набора. Этикетки или вкладыши могут включать инструкции для врача или субъекта по использованию одного или более компонентов набора в способе, протоколе лечения или терапевтической схеме. Инструкции могут включать дозы, частоту или продолжительность, а также инструкции по применению любого из способов, протоколов лечения или терапевтических схем, описанных в настоящем документе.

[230] Этикетки или вкладыши могут включать информацию о любой пользе,

которую может обеспечить компонент, например, о терапевтическом эффекте. Этикетки или вкладыши могут включать информацию о потенциальных неблагоприятных побочных эффектах, например, предупреждения субъекту или клиницисту относительно ситуаций, в которых нецелесообразно использовать конкретную композицию (например, описанную в настоящем документе модифицированную иммунную клетку). Например, неблагоприятные побочные эффекты, как правило, с большей вероятностью возникают при более высоких дозах, частоте или продолжительности применения активного агента, и, следовательно, инструкции могут включать рекомендации против более высоких доз, частоты или продолжительности применения. Неблагоприятные побочные эффекты могут также возникать, когда субъект принимает, будет или в настоящее время принимает одно или более других лекарств, которые могут быть несовместимы с композицией, или субъект имеет, будет или в настоящее время проходит другой протокол лечения или терапевтический режим, который будет несовместим с составом и, следовательно, инструкции могут включать информацию о такой несовместимости.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[231] Используемые в описании и формуле изобретения формы единственного числа включают ссылки на множественное число, если из контекста явно не следует иное. Например, термин «клетка» включает множество клеток, включая их смеси.

[232] Используемый в настоящем документе термин «содержащий» означает, что композиции и способы включают перечисленные элементы, но не исключают других. «Состоящий по существу из» при использовании для определения композиций и способов означает исключение других элементов, имеющих какое-либо существенное значение из комбинации для предполагаемого использования. Например, композиция, состоящая по существу из элементов, определенных в настоящем документе, не будет исключать следовые примеси из способа выделения и очистки и фармацевтически приемлемые носители, такие как фосфатно-солевой буфер, консерванты и тому подобное. «Состоящий из» означает исключение более чем микроэлементов из других ингредиентов и существенных стадий способа введения раскрытых в настоящем документе композиций. Аспекты, определенные каждым из этих переходных терминов, находятся в пределах объема настоящего изобретения.

[233] В настоящем документе термин «около» используется для обозначения того, что значение включает в себя стандартное отклонение ошибки для устройства или способа, используемого для определения значения. Термин «около», когда он используется перед числовым обозначением, например, температурой, временем, количеством и концентрацией, включая диапазон, указывает на приближения, которые могут варьироваться на (+) или (-) 15%, 10%, 5%, 3%, 2% или 1%.

[234] Также, как используется в настоящем документе, «и/или» относится к любым и всем возможным комбинациям одного или более связанных перечисленных элементов, а также к отсутствию комбинаций при интерпретации в альтернативном варианте («или»).

[235] Используемый в настоящем документе термин «необязательный» или

«необязательно» означает, что описанное далее событие или обстоятельство может или не может произойти, и что описание включает варианты осуществления, в которых событие или обстоятельство имеет место, и варианты осуществления, в которых оно не происходит.

[236] Используемый в настоящем документе термин «антитело» относится к белку, который связывается с другими молекулами (антигенами, например, мезотелином) через переменные домены тяжелой и легкой цепи, V_H и V_L соответственно. Термин «переменная область» или «переменный домен» относится к домену антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи (V_H и V_L соответственно) нативного антитела обычно имеют схожие структуры, при этом каждый домен включает четыре консервативных каркасных участка (FR) и три CDR. (См., например, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)). Одним доменом V_H или V_L может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с использованием домена V_H или V_L из антитела, которое связывает антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов V_L или V_H , соответственно. См., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Кларксон и др., *Nature* 352:624-628 (1991).

[237] Антитела по настоящему изобретению включают моноклональные антитела. Термин «моноклональный», когда он используется по отношению к антителу, относится к антителу, которое основано на одном клоне, получено или получено из него, включая любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон. Таким образом, «моноклональное» антитело определяется в настоящем документе структурно, а не способом его получения.

[238] Моноклональные антитела получают способами, известными в данной области техники (Kohler et al., *Nature*, 256:495(1975); и Harlow and Lane, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1999). Кратко, моноклональные антитела можно получить путем инъекции мышам антигена. Полипептид или пептид, используемый для иммунизации животного, может быть получен из транскрибированной ДНК или химически синтезирован и конъюгирован с белком-носителем. Обычно используемые носители, химически связанные с иммунизирующим пептидом, включают, например, гемоцианин улитки (KLH), тиреоглобулин, бычий сывороточный альбумин (BSA) и столбнячный анатоксин. Продукция антител проверяется путем анализа образца сыворотки, удаления селезенки для получения В-лимфоцитов, слияния В-лимфоцитов с клетками миеломы для получения гибридом, клонирования гибридом, отбора положительных клонов, продуцирующих антитела к антигену, и выделения антител из культур гибридом. Моноклональные антитела можно выделить и очистить из культур гибридом с помощью различных общепринятых способов, которые включают, например, аффинную хроматографию с белком-А-сефарозой, эксклюзионную хроматографию и ионообменную хроматографию (см., например, Coligan et al., Current Protocols in

Immunology секции 2.7.1-2.7.12 и секции 2.9.1-2.9.3; и Barnes *et al.*, «Methods in Molecular Biology», 10:79-104, Humana Press (1992)).

[239] Антитела по настоящему изобретению могут принадлежать к любому классу антител: IgM, IgG, IgE, IgA, IgD или подклассу. Типичными подклассами IgG являются IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄.

[240] Антитела по настоящему изобретению могут представлять собой гуманизированное антитело. Термин «гуманизированный» относится к последовательности антитела, которая имеет нечеловеческие аминокислотные остатки одной или более областей, определяющих комплементарность (CDR), которые специфически связываются с антигеном в акцепторной молекуле иммуноглобулина человека, и один или более человеческих аминокислотных остатков в каркасной области (FR), которая фланкирует CDR. Любая мышь, крыса, морская свинка, коза, примат, не являющийся человеком (например, обезьяна, шимпанзе, макака, орангутан и т.д.) или другое животное антитело может быть использовано в качестве донора CDR для получения гуманизированного антитела. Остатки каркасной области человека можно заменить соответствующими остатками нечеловеческого происхождения (например, из донорской вариабельной области). Таким образом, остатки в каркасных областях человека могут быть заменены соответствующим остатком из донорного антитела CDR, не являющегося человеческим. Гуманизированное антитело может включать остатки, которые не обнаружены ни в человеческом антителе, ни в донорских CDR или каркасных последовательностях. Использование компонентов антител, полученных из гуманизированных моноклональных антител, уменьшает проблемы, связанные с иммуногенностью нечеловеческих участков. Способы получения гуманизированных антител известны в данной области (см., например, патенты США № 5225539; 5530101, 5565332 и 5585089; Riechmann *et al.*, (1988) *Nature* 332:323; EP 239400; W091/09967; EP 592106; EP 519596; Padlan *Molecular Immunol.* (1991) 28:489; Studnicka *et al.*, *Protein Engineering* (1994) 7:805; Singer *et al.*, *J. Immunol.* (1993) 150:2844; и Roguska *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* (1994) 91:969).

[241] Антитела по настоящему изобретению могут представлять собой химерные антитела. Термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором разные части происходят от разных видов животных, например, имеющих вариабельную область, полученную из мышинового моноклонального антитела, и константную область человеческого иммуноглобулина, например, гуманизированные антитела. В некоторых вариантах осуществления, разработаны способы получения «химерных антител» (Morrison *et al.*, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:851-855; Neuberger *et al.*, 1984, *Nature* 312:604-608; Takeda *et al.*, 1985, *Nature* 314:452-454) путем сплайсинга генов из молекулы мышинового антитела соответствующей антигенной специфичности вместе с генами из молекулы человеческого антитела соответствующей биологической активности.

[242] Антитела по настоящему изобретению включают их связывающие фрагменты. Типовые фрагменты антител включают Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fd,

одноцепочечный Fv (scFv), Fv с дисульфидной связью (sdFv), переменную область V_L легкой цепи, переменную область V_H тяжелой цепи, триспецифическое (Fab_3), биспецифическое (Fab_2), дидоно ($(V_L-V_H)_2$ или $(V_H-V_L)_2$), тридоно (трехвалентные), тетраддоно (четыревалентные), мини-антидоно ($(scFv-C_H)_2$), биспецифические одноцепочечные Fv (Bis-scFv), IgGdeltaCH2, scFv-Fc, $(scFv)_2$ -Fc и IgG4PE. Такие фрагменты могут иметь аффинность связывания, как полноразмерное антидоно, специфичность связывания, как полноразмерное антидоно, или одну или более активностей или функций полноразмерного антидоно, *например*, функцию или активность связывающего мезотелин антидоно.

[243] Фрагменты антител могут комбинироваться. Например, подпоследовательности V_L или V_H могут быть соединены линкерной последовательностью, образуя, таким образом, химеру V_L - V_H . Комбинация последовательностей одноцепочечных Fv (scFv) может быть соединена линкерной последовательностью, образуя, таким образом, химеру scFv-scFv. Фрагменты антител включают одноцепочечные антидоно или переменную область(и) по отдельности или в комбинации со всеми или частью других последовательностей.

[244] Фрагменты антител могут быть получены различными способами, включая, помимо прочего, протеолитическое расщепление интактного антидоно, и продукцию рекомбинантными клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления, антидоно представляют собой фрагменты, полученные рекомбинантным путем, такие как фрагменты, содержащие структуры, которые не встречаются в природе, например, фрагменты с двумя или более областями или цепями антидоно, соединенными синтетическими линкерами, например, пептидными линкерами, и/или которые могут не могут быть получены путем ферментативного расщепления встречающихся в природе интактных антител. Некоторые аспекты относятся к фрагментам антител, которые представляют собой scFv.

[245] Фрагменты антител также можно получить путем протеолитического гидролиза антидоно, например, расщеплением пепсином или папаином целых антител. Фрагменты антител, полученные ферментативным расщеплением пепсином, образуют фрагмент 5S, обозначенный $F(ab')_2$. Этот фрагмент можно дополнительно расщепить с использованием тиол-восстанавливающего агента с получением моновалентных фрагментов 3,5S Fab'. Альтернативно, ферментативное расщепление с использованием пепсина дает непосредственно два моновалентных Fab'-фрагмента и Fc-фрагмент (см., *например*, патенты США № 4036945 и 4331647; и Edelman *et al.*, *Methods Enzymol.* 1:422 (1967)). Также могут быть использованы другие способы расщепления антител, такие как разделение тяжелых цепей с образованием моновалентных фрагментов легкой-тяжелой цепи, дальнейшее расщепление фрагментов или другие ферментативные или химические способы.

[246] В некоторых вариантах осуществления, описаны способы получения одноцепочечных антител (патент США № 4694778; Bird, 1988, *Science* 242:423-42; Huston

et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883 и Ward et al., 1989, Nature 334:544-54) адаптированные для получения одноцепочечных антител. Одноцепочечные антитела образуются путем соединения фрагментов тяжелой и легкой цепи области Fv посредством аминокислотного мостика, в результате чего образуется одноцепочечный полипептид. Также необязательно используются способы сборки функциональных Fv-фрагментов в E.coli (Skerra et al., 1988, Science 242:1038-1041).

[247] В настоящем документе термины «идентичный», «идентичность последовательности» или процент «идентичности», когда они используются в контексте двух или более нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей, относятся к двум или более последовательностям, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент нуклеотидов или аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми, например, по меньшей мере на 60% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичны в указанном регионе. Выравнивание и идентичность последовательностей можно определить с использованием программ, известных в данной области техники, например программ, описанных в Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds. 1987), приложение 30, раздел 7.7.18, Таблица 7.7.1. Предпочтительно для выравнивания используются параметры по умолчанию. Предпочтительной программой выравнивания является BLAST, использующая параметры по умолчанию. В частности, предпочтительными программами являются BLASTN и BLASTP, использующие следующие параметры по умолчанию: генетический код=стандарт; фильтр=нет; последовательность=обе; отсечка=60; ожидание=10; Матрица=BLOSUM62; Описания=50 последовательностей; сортировать по=ВЫСОКИЙ БАЛЛ; Базы данных=неизбыточные, GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+GenBank переводы CDS+SwissProtein+SPupdate+PIR. Подробную информацию об этих программах можно найти по следующему адресу в Интернете: ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLAST. Термины «идентичный», «идентичность последовательности» или процент «идентичности» также относятся или могут применяться к комплементарной тестируемой последовательности. Эти термины также включают последовательности, которые имеют делеции и/или добавления, а также последовательности, которые имеют замены. Как описано в настоящем документе, предпочтительные алгоритмы могут учитывать пробелы и т.п. Предпочтительно идентичность существует в отношении участка, длина которого составляет по меньшей мере около 25 аминокислот или нуклеотидов, или более предпочтительно в отношении участка, длина которого составляет по меньшей мере 50-100 аминокислот или нуклеотидов. «Неродственная» или «негомологичная» последовательность имеет менее 40% идентичности или, альтернативно, менее 25% идентичности с одной из последовательностей, раскрытых в настоящем документе.

[248] Термины «белок», «пептид» и «полипептид» используются взаимозаменяемо и в самом широком смысле для обозначения соединения из двух или более субъединиц аминокислот, аналогов аминокислот или пептидомиметиков. Субъединицы могут быть

связаны пептидными связями. В другом аспекте субъединица может быть связана другими связями, например, сложноэфирными, простыми эфирами и т.д. Белок или пептид должен содержать по меньшей мере две аминокислоты, и не налагается никаких ограничений на максимальное количество аминокислот, которые могут содержаться в белке или последовательности пептида. Полипептиды включают полноразмерные нативные полипептиды и «модифицированные» формы, такие как субпоследовательности, варианты последовательности, слитые/химерные последовательности и доминантно-негативные последовательности. Используемый в настоящем документе термин «аминокислота» относится к природным и/или неприродным или синтетическим аминокислотам, включая глицин и оптические изомеры D и L, аналоги аминокислот и пептидомиметики.

[249] Пептиды включают L- и D-изомеры и их комбинации. Пептиды могут включать модификации, обычно связанные с посттрансляционным процессингом белков, например, циклизацию (*например*, дисульфидную или амидную связь), фосфорилирование, гликозилирование, карбоксилирование, убиквитинирование, миристилирование или липидирование. Модифицированные пептиды могут иметь один или более аминокислотных остатков, замененных другим остатком, добавленных к последовательности или удаленных из последовательности. Конкретные примеры включают одну или более аминокислотных замен, добавлений или делеций (*например*, 1-3, 3-5, 5-10, 10-20 или более).

[250] В настоящем документе термины «модификация» и «модифицированный» относятся к мутации, замене, добавлению или удалению одного или более аминокислотных остатков антитела, белка или полипептида по сравнению с эталонным антителом, белком или полипептидом, эквивалентным антителу, белку или полипептиду без модификации. В некоторых вариантах осуществления, модификация включает консервативную замену.

[251] «Консервативная замена» представляет собой замену одной аминокислоты биологически, химически или структурно сходным остатком. Биологически подобная означает, что замена совместима с активностью или функцией незамещенной последовательности. Структурное сходство означает, что аминокислоты имеют боковые цепи одинаковой длины, такие как аланин, глицин и серин, или имеют одинаковый размер. Химическое сходство означает, что остатки имеют одинаковый заряд или являются гидрофильными или гидрофобными. Конкретные примеры включают замену одного гидрофобного остатка, такого как изолейцин, валин, лейцин или метионин, на другой или замену одного полярного остатка на другой, *например* замену аргинина на лизин, глутаминовой кислоты на аспарагиновую кислоту или глутамин на аспарагин, серина на треонин и т.п.

[252] Используемый в настоящем документе термин «нуклеиновая кислота» относится к ДНК или РНК, содержащим природные, синтетические или искусственные аналоги или основания нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления,

нуклеотидный аналог или искусственное нуклеотидное основание содержит нуклеиновую кислоту с модификацией 2'-гидроксильной группы рибозного фрагмента. В некоторых вариантах осуществления, модификация включает H, OR, R, галоген, SH, SR, NH₂, NHR, NR₂ или CN, где R представляет собой алкильную группу. Примеры алкильной группы включают, помимо прочего, галогены, серы, тиолы, тиоэфиры, эфиры, амины (первичные, вторичные или третичные), амиды, простые и сложные эфиры, спирты и кислород. В некоторых вариантах осуществления, алкильный фрагмент дополнительно содержит модификацию. В некоторых вариантах осуществления, модификация содержит азогруппу, кетогруппу, альдегидную группу, карбоксильную группу, нитрогруппу, нитрозогруппу, нитрильную группу, гетероциклическую группу (например, имидазольную, гидразино или гидроксиламиногруппу), изоцианатную или цианатную группу или серосодержащую группу (например, сульфоксид, сульфон, сульфид или дисульфид). В некоторых вариантах осуществления, алкильный фрагмент дополнительно содержит гетерозамещение. В некоторых вариантах осуществления, углерод гетероциклической группы замещен азотом, кислородом или серой. В некоторых вариантах осуществления, гетероциклическое замещение включает, помимо прочего, морфолино, имидазол и пирролидино.

[253] В некоторых вариантах осуществления, нуклеотидный аналог содержит модифицированное основание, такое как, но не ограничиваясь, 5-пропинилуридин, 5-пропинилцитидин, 6-метиладенин, 6-метилгуанин, N, N,-диметиладенин, 2-пропиладенин, 2-пропилгуанин, 2-аминоаденин, 1-метилюридин, 3-метилуридин, 5-метилцитидин, 5-метилуридин и другие нуклеотиды, имеющие модификацию в положении 5, 5-(2-амино)пропилуридин, 5-галогенцитидин, 5-галогенуридин, 4-ацетилцитидин, 1-метиладенозин, 2-метиладенозин, 3-метилцитидин, 6-метилуридин, 2-метилгуанозин, 7-метилгуанозин, 2, 2-диметилгуанозин, 5-метиламиноэтилуридин, 5-метилоксиуридин, дезануклеотиды (такие как 7-дезааденозин, 6-азуридин, 6-азоцитидин или 6-азотимидин), 5-метил-2-тиоуридин, другие тиооснования (такие как 2-тиоуридин, 4-тиоуридин и 2-тиоцитидин), дигидроуридин, псевдоуридин, кевозин, археозин, нафтил и замещенные нафтильные группы, любые O- и N-алкилированные пурины и пиримидины (такие как N6-метиладенозин, 5-метилкарбонилметилуридин, уридин-5-оксиуксусная кислота, пиридин-4-он или пиридин-2-он), фенил и модифицированные фенильные группы, такие как аминофенол или 2,4,6-триметоксибензол, модифицированные цитозины, которые действуют как G-фиксирующие нуклеотиды, 8-замещенные аденины и гуанины, 5-замещенные урацилы и тимины, азапиримидины, карбоксигидроксиалкилнуклеотиды, карбоксиалкиламиноалкилнуклеотиды и алкилкарбонилалкилированные нуклеотиды. Модифицированные нуклеотиды также включают те нуклеотиды, которые модифицированы в отношении сахарного фрагмента, а также нуклеотиды, имеющие сахара или их аналоги, которые не являются рибозилом. Например, сахарные фрагменты в некоторых вариантах осуществления, представляют собой или основаны на маннозах, арабинозах, глюкопиранозах, галактопиранозах, 4'-

тиорибозе и других сахарах, гетероциклах или карбоциклах. Термин нуклеотид также включает в себя то, что известно в данной области техники как универсальные основания. Например, универсальные основания включают, помимо прочего, 3-нитропиррол, 5-нитроиндол или небуларин.

[254] Молекулы нуклеиновой кислоты настоящего изобретения могут быть получены общеизвестным способом, таким как способ химического синтеза или способ ПЦР-амплификации, на основе информации о нуклеотидной последовательности каждой из нуклеиновых кислот. Кодоны, выбранные для кодирования аминокислот, можно сконструировать для оптимизации экспрессии нуклеиновой кислоты в представляющих интерес клетках-хозяевах.

[255] В настоящем изобретении «экспрессия IL-15» Т-клетками означает, что различные формы IL-15 (например, дикого типа, варианты или слитые белки, описанные выше) могут экспрессироваться при условии, что эффекты настоящего изобретения изобретение не потеряны.

[256] В настоящем документе термин «по существу» при описании популяции Т-клеток относится к популяции, содержащей менее около 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или менее загрязняющих клеток. В некоторых вариантах осуществления, загрязняющие клетки составляют менее около 20% в популяции Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, загрязняющие клетки составляют менее около 15% в популяции Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления, загрязняющие клетки составляют менее около 10% в популяции Т-клеток.

[257] Используемые в настоящем документе термины «лечение», «лечение» и т.п. означают получение желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть терапевтическим в плане облегчения симптомов заболевания или частичного или полного излечения заболевания и/или неблагоприятного эффекта, связанного с заболеванием. В одном аспекте термин «лечение» исключает профилактику.

[258] В настоящем документе термин «лечение» дополнительно включает системное улучшение симптомов, связанных с патологией, и/или задержку появления симптомов. Клинические и субклинические доказательства «лечения» будут различаться в зависимости от патологии, личности и лечения. В одном аспекте лечение исключает профилактику.

[259] Термин «улучшение» означает заметное улучшение состояния субъекта. Обнаружимое улучшение включает субъективное или объективное уменьшение, уменьшение, ингибирование, подавление, ограничение или контроль возникновения, частоты, тяжести, прогрессирования или продолжительности симптома, вызванного или связанного с заболеванием, такого как один или более неблагоприятных симптомов, расстройства, заболевания, патологии, заболевания или осложнения, вызванных или связанных с заболеванием, или улучшение основной причины или следствия заболевания, или обращение заболевания вспять.

[260] Таким образом, лечение может привести к уменьшению, уменьшению,

ингибированию, подавлению, ограничению, контролю или предотвращению заболевания или связанного с ним симптома или последствия или основной причины; уменьшение, уменьшение, ингибирование, подавление, ограничение, контроль или предотвращение прогрессирования или ухудшения заболевания, состояния, симптома или последствия или основной причины; или дальнейшее ухудшение или появление одного или более дополнительных симптомов болезненного состояния или симптома. Таким образом, успешный результат лечения приводит к «терапевтическому эффекту» или «пользе» в виде уменьшения, подавления, подавления, ограничения, контроля или предотвращения возникновения, частоты, тяжести, прогрессирования или продолжительности одного или более симптомов или лежащих в их основе причин или последствий состояния, заболевания или симптома у субъекта, такие как один или более неблагоприятных симптомов, расстройств, заболеваний, патологий, заболеваний или осложнений, вызванных или связанных с заболеванием или состоянием. Поэтому способы лечения, воздействующие на одну или более основных причин состояния, заболевания или симптома, считаются полезными. Стабилизация расстройства или состояния также является успешным результатом лечения.

[261] Таким образом, терапевтическая польза или улучшение не обязательно должно заключаться в полном устранении любого одного, большинства или всех симптомов, осложнений, последствий или основных причин, связанных с состоянием или заболеванием. Таким образом, удовлетворительная конечная точка достигается, когда наблюдается постепенное улучшение состояния субъекта или частичное снижение, уменьшение, ингибирование, подавление, ограничение, контроль или предотвращение возникновения, частоты, тяжести, прогрессирования или продолжительности, или ингибирования или обращение вспять одного или более связанных неблагоприятных симптомов, осложнений, последствий или основных причин, ухудшение или прогрессирование (например, стабилизация одного или более симптомов или осложнений состояния, расстройства или заболевания) одного или более физиологических, биохимических или клеточных проявления или характеристики расстройства или заболевания, такие как один или более неблагоприятных симптомов, расстройств, заболеваний, патологий, заболеваний или осложнений, вызванных или связанных с заболеванием или состоянием, в течение короткого или длительного периода времени (часы, дни, недели, месяцы и т. д.).

[262] Термины «приемлемый», «эффективный» или «достаточный», когда они используются для описания выбора любых компонентов, диапазонов, дозированных форм и т. д., раскрытых в настоящем документе, означают, что указанный компонент, диапазон, дозированная форма и т. д. подходят для раскрытой цели.

[263] Термины «субъект», «хозяин», «индивидуум» и «пациент» используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения животных, обычно млекопитающих. Любое подходящее млекопитающее можно лечить способом, клеткой или композицией, описанными в настоящем документе. Неограничивающие примеры

млекопитающих включают человека, нечеловеческих приматов (например, человекообразных обезьян, гиббонов, шимпанзе, орангутанов, мартышек, макак и т.п.), домашних животных (например, собак и кошек), сельскохозяйственных животных (например, лошадей, коров, коз, овец, свиней) и экспериментальных животных (например, мышей, крыс, кроликов, морских свинок). В некоторых вариантах осуществления, млекопитающим является человек. Млекопитающее может быть любого возраста или на любой стадии развития (например, взрослый, подросток, ребенок, младенец или млекопитающее в утробе матери). Млекопитающее может быть самцом или самкой. Млекопитающим может быть беременная самка. В некоторых вариантах осуществления, субъектом является человек.

[264] В настоящем документе термин « $\gamma\delta$ T-клетка» означает клетку, которая экспрессирует CD3 и экспрессирует TCR, состоящий из цепи TCR γ (γ TCR) и цепи TCR δ (δ TCR) (в дальнейшем иногда называемой « $\gamma\delta$ TCR»).

[265] В настоящем документе термин « $\alpha\beta$ T-клетка» означает клетку, которая экспрессирует CD3 и экспрессирует TCR, состоящий из цепи TCR α (α TCR) и цепи TCR β (β TCR) (в дальнейшем иногда называемой « $\alpha\beta$ TCR»). В некоторых случаях почти все $\alpha\beta$ T-клетки распознают комплекс антигенный пептид-MHC (главный комплекс гистосовместимости, в случае человека HLA: человеческий лейкоцитарный антиген) с помощью $\alpha\beta$ TCR (это следует называть рестрикцией MHC). Напротив, $\gamma\delta$ T-клетки распознают различные молекулы, экспрессируемые клетками, с помощью $\gamma\delta$ TCR, независимо от молекулы MHC.

[266] Используемый в настоящем документе термин «модулировать» или «модулятор» относится к способности компонента положительно или отрицательно изменять связанную функцию. Примерные модуляции включают около 1%, около 2%, около 5%, около 10%, около 25%, около 50%, около 75% или около 100%.

[267] В некоторых вариантах осуществления, в настоящем документе предложены модуляторы передачи сигнала TGF β , способные изменять или предотвращать передачу сигнала рецептором TGF β . Специалисты в данной области техники поймут, что этого можно достичь либо путем связывания цитокина (т.е. TGF β), который активирует передачу сигнала TGF β R, либо самого рецептора (например, антитела TGF β или его фрагмента, антитела TGF β R или его фрагмента). Следовательно, этот термин охватывает как молекулы, которые связывают TGF β , так и молекулы, которые связывают TGF β R. В одном варианте осуществления, модулятор по настоящему изобретению может нейтрализовать передачу сигналов TGF β через TGF β RII. Под «нейтрализацией» подразумевается, что нормальный сигнальный эффект TGF β блокируется, так что присутствие TGF β оказывает нейтральное воздействие на передачу сигналов TGF β RII. В некоторых вариантах осуществления, модуляторы TGF β улучшают иммунный ответ у хозяина.

[268] В настоящем документе термины «трансформирующий фактор роста- β », «TGF-бета», «TGFb», «TGF β » и «трансформирующий фактор роста-бета» используются

взаимозаменяемо и относятся к семейству молекул, которые имеют либо полноразмерную нативную аминокислотную последовательность любого из TGF-бета человека, включая латентные формы и ассоциированный или неассоциированный комплекс предшественника и зрелого TGF-бета («латентный TGF-бета»). Под ссылкой на такой TGF-бета в настоящем документе следует понимать ссылку на любую из идентифицированных в настоящее время форм, включая TGF-бета1, TGF-бета2, TGF-бета3, TGF-бета4 и TGF-бета5 и их латентные версии, и виды TGF-бета человека, идентифицированные в будущем, включая полипептиды, полученные из последовательности любого известного TGF-бета и на по меньшей мере около 75%, предпочтительно на по меньшей мере около 80%, более предпочтительно на по меньшей мере около 85%, еще более предпочтительно на по меньшей мере около 90% и еще более предпочтительно на по меньшей мере около 95% гомологичны данной последовательности. Конкретные термины «TGF-бета1», «TGF-бета2» и «TGF-бета3», и «TGF-бета4» и «TGF-бета5» относятся к TGF-бета, определенным в литературе, например, в Derynck et al., *Nature*, см. выше, Seyedin et al., *J. Biol. Chem.*, 262, см. выше, и deMartin et al., см. выше. Термин «TGF-бета» относится к гену, кодирующему TGF-бета человека. Предпочтительным TGF-бета является TGF-бета человека с нативной последовательностью.

[269] Члены семейства TGF-бета определяются как те, которые имеют девять остатков цистеина в зрелой части молекулы, на по меньшей мере 65% гомологичны другим известными последовательностями TGF-бета в зрелой области и могут конкурировать за один и тот же рецептор. Кроме того, все они, по-видимому, кодируются как более крупный предшественник, который имеет общую область высокой гомологии вблизи N-конца и демонстрирует сохранение трех остатков цистеина в той части предшественника, которая позже будет удалена в результате процессинга. Более того, TGF-бета, по-видимому, имеет сайт процессинга с четырьмя или пятью аминокислотами.

[270] В настоящем документе термины «рецептор трансформирующего фактора роста- β », «TGF- β R» или «рецептор TGF- β », или «рецептор TGF-бета» или «TGF β R» используются для охвата всех трех подтипов TGF β R семейства (т.е. TGF β R1, TGF β R2, TGF β R3). Рецепторы TGF β характеризуются серин/треониновой киназной активностью и существуют в нескольких различных изоформах, которые могут быть гомо- или гетеродимерами.

[271] Используемый в настоящем документе термин «модулятор сигнального пути TGF β », «модулятор TGF β », «модулятор сигнального пути TGF β » или «модулятор сигнального пути TGF β », используемый в настоящем документе взаимозаменяемо, относится к молекуле (например, антителу или его фрагменту), которая способный модулировать сигнальный путь TGF β (например, обладающий ингибирующим, блокирующим или нейтрализующим эффектом), который может либо связывать сам TGF β , либо он может связывать рецептор TGF β на клетках. В любом случае модулятор ингибирует сигнальный путь TGF β (например, либо путем связывания самого цитокина

(т.е. TGF β)), либо путем связывания рецептора TGF β . Следовательно, этот термин охватывает оба типа модуляторов, которые связывают TGF β , и те, которые связывают рецептор TGF β . В различных вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, модулятор сигнального пути TGF β экспрессируется вместе с химерным антигенным рецептором в модифицированной иммунной клетке (например, CAR-T-клетке). В различных вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, модулятор сигнального пути TGF β секретируется из модифицированной иммунной клетки или экспрессируется связанным с мембраной иммунной клетки. CAR-T-клетки, экспрессирующие такой модулятор сигнального пути TGF β , называются в настоящем документе CAR-T-клетками, бронированными TGF β .

[272] Используемый в настоящем документе термин «индуцированная плюрипотентная стволовая клетка» (далее иногда называемая «iPS клеткой») означает стволовую клетку, которая создается путем введения фактора репрограммирования в соматическую клетку, обладает плюрипотентностью, позволяющей дифференцироваться во множество клеток присутствующих в живых организмах, и обладает способностью к пролиферации. Термин охватывает любую клетку, индуцированную в гемопоэтическую клетку-предшественник, используемую в настоящем изобретении. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки предпочтительно получают от млекопитающего (например, мыши, крысы, хомяка, морской свинки, собаки, обезьяны, орангутанга, шимпанзе, человека), более предпочтительно человека.

[273] В некоторых случаях плюрипотентные стволовые клетки можно индуцировать или создать путем введения фактора перепрограммирования в любую соматическую клетку. Типичные факторы перепрограммирования включают, помимо прочего, гены и генные продукты, такие как Oct3/4, Sox2, Sox1, Sox3, Sox15, Sox17, Klf4, Klf2, c-Myc, N-Myc, L-Myc, Nanog, Lin28, Fbx15, ERas, ECAT15-2, Tcl1, бета-катенин, Lin28b, Sall1, Sall4, Esrrb, Nr5a2, Tbx3, Glis1 и т.п. Эти факторы перепрограммирования можно использовать по отдельности или в комбинации. В некоторых случаях фактор перепрограммирования комбинации иллюстрируется комбинациями, описанными в WO 2007/069666, WO 2008/118820, WO 2009/007852, WO 2009/032194, WO 2009/058413, WO 2009/057831, WO 2009/075119, WO 2009/079007, WO 2009/091659, WO 2009/101084, WO 2009/101407, WO 2009/102983, WO 2009/114949, WO 2009/117439, WO 2009/126250, WO 2009/126251, WO 2009/126655, WO 2009/157593, WO 2010/009015, WO 2010/033906, WO 2010/033920, WO 2010/042800, WO 2010/050626, WO 2010/056831, WO 2010/068955, WO 2010/098419, WO 2010/102267, WO 2010/111409, WO 2010/111422, WO 2010/115050, WO 2010/124290, WO 2010/147395, WO 2010/147612, Huangfu D, et al. (2008), Nat. Biotechnol., 26: 795-797, Shi Y, et al. (2008), Cell Stem Cell, 2: 525-528, Eminli S, et al. (2008), Stem Cells. 26:2467-2474, Huangfu D, et al. (2008), Nat. Biotechnol. 26:1269-1275, Shi Y, et al. (2008), Cell Stem Cell, 3, 568-574, Zhao Y, et al. (2008), Cell Stem Cell, 3:475-479, Marson A, (2008), Cell Stem Cell, 3, 132-135, Feng B, et al. (2009), Nat. Cell Biol. 11:197-203, R.L. Judson et al., (2009), Nat. Biotechnol., 27:459-461, Lyssiotis CA, et al. (2009), Proc Natl Acad Sci U S A.

106:8912-8917, Kim JB, et al. (2009), *Nature*. 461:649-643, Ichida JK, et al. (2009), *Cell Stem Cell*. 5:491-503, Heng JC, et al. (2010), *Cell Stem Cell*. 6:167-74, Han J, et al. (2010), *Nature*. 463:1096-100, Mali P, et al. (2010), *Stem Cells*. 28:713-720, and Maekawa M, et al. (2011), *Nature*. 474:225-9.

[274] Примеры соматических клеток включают, помимо прочего, любые соматические клетки плода, неонатальные соматические клетки и зрелые соматические клетки, и любые первичные культивируемые клетки, субкультивированные клетки и установленные клеточные линии. Кроме того, клетки, описанные выше, могут быть здоровыми клетками или клетками заболевания. Конкретные примеры соматических клеток включают (1) тканевые стволовые клетки (соматические стволовые клетки), такие как нервные стволовые клетки, гемопоэтические клетки-предшественники, мезенхимальные стволовые клетки и стволовые клетки пульпы зуба; (2) тканевые клетки-предшественники; и (3) дифференцированные клетки, такие как клетки крови (например, клетки периферической крови, клетки пуповинной крови и т.п.), мононуклеарные клетки (например, лимфоциты (NK-клетки, В-клетки, Т-клетки, отличные от $\alpha\beta$ T-клеток (например, $\gamma\delta$ T-клетки и т.п.), моноциты, дендритные клетки и т.п.)) гранулоциты (например, эозинофилы, нейтрофилы, базофилы, мегакариоциты), эпителиальные клетки, эндотелиальные клетки, мышечные клетки, фибробласты (например, клетки кожи и т.п.), клетки волос, клетки печени, клетки слизистой оболочки желудка, энтероциты, клетки селезенки, клетки поджелудочной железы (например, экзокринные клетки поджелудочной железы и т.п.), клетки головного мозга, клетки легких, клетки почек и адипоциты. Среди них предпочтительной является мононуклеарная клетка, отличная от $\alpha\beta$ T-клетки, более конкретно, предпочтительны моноцит или $\gamma\delta$ T-клетка.

[275] Типичные способы, такие как способ соосаждения фосфатом кальция, способ ПЭГ, способ электропорации, способ микроинъекции, способ липофекции и т.п., могут быть использованы для введения фактора перепрограммирования в соматическую клетку. Дополнительные способы могут включать способы, описанные в дополнительном томе 8 *Cell Engineering*, *New Cell Engineering experiment protocol*, 263-267 (1995) (опубликован Shujunsha), *Virology*, vol. 52, 456 (1973), и *Folia Pharmacol. Jpn.*, vol. 119 (No. 6), 345-351 (2002). При использовании вирусного вектора нуклеиновую кислоту вводят в подходящую упаковывающую клетку (например, клетку Plat-E) и линию комплементарных клеток (например, клетку 293), вирусный вектор, полученный в культуральном супернатанте, извлекают и клетки инфицируют вектором подходящим способом, подходящим для каждого вирусного вектора, посредством чего вектор вводят в клетки. Например, когда в качестве вектора используют ретровирусный вектор, конкретные средства раскрыты в WO 2007/69666, *Cell*, 126, 663-676 (2006) и *Cell*, 131, 861-872 (2007) и т.п. В частности, при использовании ретровирусного вектора возможна высокоэффективная трансфекция в различные клетки с использованием рекомбинантного фрагмента фибронектина CH-296 (производства Takara Bio Inc.).

[276] Фактор перепрограммирования в форме РНК может быть непосредственно

введен в клетки и экспрессирован в клетках. В качестве способа введения РНК можно использовать известный способ и предпочтительно использовать, например, способ липофекции, способ электропорации или тому подобное. Когда фактор перепрограммирования находится в форме белка, его можно ввести в клетку таким способом, как липофекция, слияние с проникающим через клеточную мембрану пептидом (например, ТАТ, полученным из ВИЧ, и полиаргинином), микроинъекцией и т.п.

[277] В некоторых вариантах осуществления, способ дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в Т-клетки конкретно не ограничен при условии, что индуцированные плюрипотентные стволовые клетки можно дифференцировать в $\gamma\delta$ Т-клетки. В некоторых случаях способ включает дифференцировку индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в кроветворные клетки-предшественники и дифференцировку кроветворных клеток-предшественников в CD3-положительные Т-клетки. Типичные способы использования при дифференцировке iPSC в гемопоэтические клетки-предшественники включают способы, раскрытые в WO 2013/075222, WO 2016/076415 и Liu S. et al., *Cytherapy*, 17 (2015); 344-358. Типичные способы применения для дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников в CD3-положительные Т-клетки включают способы, раскрытые в WO 2016/076415 и WO 2017/221975. См. также способы, раскрытые в WO2020/013315.

ПРИМЕРЫ

[278] Эти примеры представлены только в иллюстративных целях и не ограничивают объем формулы изобретения, представленной в настоящем документе.

ПРИМЕР 1

[279] Способ получения клеток, экспрессирующих $\gamma\delta$ TCR

[280] Суспендированную популяцию клеток, дифференцированную из iPSC клеток (штамм Ff-I01s04: полученный из мононуклеарных клеток периферической крови здорового человека), предоставленную Центром исследований и применения iPSC клеток Киотского университета, с использованием известного способа культивирования (например, как описано в *Cell Reports* 2(2012)1722-1735 или WO 2017/221975) использовали для создания клеточной популяции, содержащей гемопоэтические клетки-предшественники (HPC). Например, штамм Ff-I01s04 высевали из расчета 6×10^5 клеток на лунку (День 0) в 6-луночный обработанный для сверхнизкой адгезии планшет, 10 нг/мл BMP4, 50 нг/мл bFGF, 15 нг/мл VEGF, 2 мкМ SB431542 добавляли в среду EB (StemPro34 с добавлением 10 мкг/мл инсулина человека, 5,5 мкг/мл трансферрина человека, 5 нг/мл селенита натрия, 2 mM L-глутамин, 45 mM α -монотиоглицерина и 50 мкг/мл 2-фосфат аскорбиновой кислоты), и клетки культивировали в течение 5 дней в условиях низкого содержания кислорода (5% O₂) (День 5). Затем добавляли 50 нг/мл SCF, 30 нг/мл TPO, 10 нг/мл FLT-3L и клетки культивировали в течение 5-9 дней (-День 14) с получением суспендированной популяции клеток. Среду меняли каждые два или три дня в течение периода культивирования. Полученную суспендированную популяцию клеток, содержащую HPC, окрашивали с использованием набора антител, как показано в Таблице

2.

Таблица 2

анти-CD34 антитело	Abcam PE/Cy7
анти-CD43 антитело	BD APC
анти-CD45 антитело	BioLegend BV510
анти-CD14 антитело	BioLegend APC/eFluor780
анти-CD235a антитело	BD FITC

[281] Популяции клеток, подвергшиеся вышеупомянутому окрашиванию, подвергали сортировке с помощью FACSria. Полученные клеточные фракции дифференцировали в лимфоидные клетки согласно известному способу (например, способам, описанным в Journal of Leukocyte Biology 96(2016)1165-1175 и WO 2017/221975). Например, популяцию гемопоэтических клеток-предшественников высевали из расчета 2000 клеток на лунку в 48-луночный планшет, покрытый рекомбинантной химерой h-DLL4/Fc (Sino Biological) и ретронектином (Takara Bio Inc.), и культивировали в атмосфере 5% CO₂, 37°C условия. Среду меняли каждые два или три дня в течение периода культивирования. Среда α MEM содержала 15% FBS, 2 mM L-глутамин, 100 ед/мл пенициллина, 100 нг/мл стрептомицина, 55 мкМ 2-меркаптоэтанола, 50 мкг/мл 2-фосфата аскорбиновой кислоты, 10 мкг/мл инсулина человека, 5,5 мкг/мл трансферрина человека, 5 нг/мл селенита натрия, 50 нг/мл SCF, 50 нг/мл IL-7, 50 нг/мл FLT-3L, 100 нг/мл TPO, 15 мкг/мл SB203580 и 30 нг/мл SDF-1 α . Клетки пассировали на 48-луночный планшет с аналогичным покрытием на 7 и 14 день от начала культивирования. Все клетки собирали на 21 день от начала культивирования (День 35) и наличие фракций CD45(+), CD3(+) подтверждали с помощью проточного цитометра (BD FACSriaTM Fusion, производства BD Biosciences). Полученные клетки высевали в 48-луночный планшет и культивировали в 5% CO₂, 37°C условиях. Среда α MEM содержала 15% FBS, 2 мкг/мл L-глутамин, 100 ед/мл пенициллина, 100 нг/мл стрептомицина, 50 мкг/мл 2-фосфата аскорбиновой кислоты, 10 мкг/мл инсулина человека, 5,5 мкг/мл трансферрина человека, 5 нг/мл селенита натрия, 500 нг/мл антитела к CD3 (ОКТ3) и 10 нг/мл IL-7. Все клетки собирали на 27 день от начала культивирования (День 41), клетки подсчитывали с помощью гемоцитометра и окрашивали с использованием набора антител, как показано в Таблице 3.

Таблица 3

V δ 1 Miltenyi FITC
V δ 2 Miltenyi APC
$\gamma\delta$ TCR BD BV510
CD3 BioLegend APC/Cy7
$\alpha\beta$ TCR eBioscience FITC

[282] В результате окрашивания было показано, что клетка, экспрессирующая

$\gamma\delta$ TCR ($\gamma\delta$ TCR положительная клетка), может быть получена из гемопоэтической клетки-предшественника, полученной из iPS клетки (штамм Ff-I01s04) (Фиг. 2).

[283] Кроме того, поскольку $\gamma\delta$ TCR-положительная клетка содержит V δ 1-положительную $\gamma\delta$ T-клетку и V δ 2-положительную $\gamma\delta$ T-клетку, было показано, что можно получить $\gamma\delta$ T-клетки типа V δ 1 и типа V δ 2 (Фиг. 3). (Обратите внимание, что $\gamma\delta$ TCR-положительная клетка, полученная из iPS клетки, без KI гена $\gamma\delta$ TCR, также упоминается в настоящем документе как «i $\gamma\delta$ T-клетка»)

ПРИМЕР 2

[284] Экспансионная культура и оценка функции i $\gamma\delta$ T-клеток

[285] Получение i $\gamma\delta$ T-клеток осуществляли с использованием того же способа, что и в Примере 1, за исключением того, что UCHT1 (производство GeneTex) использовали в качестве антитела к CD3, таким образом получали $\gamma\delta$ T-клетки (i $\gamma\delta$ T-клетки), полученные из iPS-клеток (штамм Ff-I01s04).

[286] Последующие полученные i $\gamma\delta$ T-клетки суспендировали при концентрации 2000000 клеток/мл в среде α -MEM, содержащей 15% FBS и добавку, содержащую цитокин, как показано в Таблице 4, и высевали на планшет покрытый антителом к CD3 (UCHT1) и RetroNectin, и культивировали при 5% CO₂/37°C в течение 3 дней. На 3 день культивирования клетки собирали с планшета, количество клеток подсчитывали с помощью NucleoCounter (зарегистрированная торговая марка) NC-200 (ChemoMetec) и клетки суспендировали в соответствующем количестве в среде α -MEM, содержащей 15% FBS и добавку, содержащую цитокин, как показано в Таблице 5, добавляют к неиммобилизирующему 6-луночному планшету G-Rex (зарегистрированная торговая марка) (WILSONWOLF) и клетки культивировали при 5% CO₂/37°C. Часть клеток собирали с планшета 4-6 раз в дни 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14 и 17 и подсчитывали количество клеток с помощью гемоцитометра.

[287] Антитело к CD3 и ретронектин иммобилизовали на культуральном планшете следующим способом. Антитело к CD3 (конечная концентрация UCHT1 3000 нг/мл) и ретронектин (конечная концентрация 150 мкг/мл), растворенные в PBS в необходимых концентрациях, добавляли в планшет и затем оставляли на ночь при 4°C. После промывания PBS, планшет использовали в тестировании.

Таблица 4

Наименование продукта	Производитель	Окончательная концентрация
Добавки инсулина, трансферрина и селена	Invitrogen	1 x
2-фосфат аскорбиновой кислоты	sigma	50 мкг/мл
IL-2	Peptotech	15 нг/мл
IL-7	Peptotech	10 нг/мл
IL-15	Peptotech	10 нг/мл

IL-21	Peprotech	20 нг/мл
IL-12	Merck	50 нг/мл
IL-18	MBL	50 нг/мл
TL-1A	Peprotech	50 нг/мл
Z-VAD-FMK	R&D	10 мкМ
Антитело человека к CD30	R&D	300 нг/мл

Таблица 5

Наименование продукта	Производитель	Окончательная концентрация
Добавки инсулина, трансферрина и селена	Invitrogen	1 x
2-фосфат аскорбиновой кислоты	sigma	50 мкг/мл
IL-2	Peprotech	15 нг/мл
IL-7	Peprotech	10 нг/мл
IL-15	Peprotech	10 нг/мл
Антитело человека к CD30	R&D	300 нг/мл

[288] Пролиферацию $\gamma\delta$ T-клеток наблюдали при стимуляции антителом к CD3 (UCHT1) и антителом к CD30 (Фиг. 4).

ПРИМЕР 3

[289] Производство клеток $V\gamma 9V\delta 2$ T из iPS клеток

[290] 1. Получение iPS клеток

[291] iPS клетки получали аналогично тому, как описано в Примере 1. В частности, использовали штамм Ff-I01s04, предоставленный Центром исследований и применения iPS-клеток (CiRA) Киотского университета. iPS клетки культивировали согласно протоколу «Культура iPS клеток человека без фидера», полученному от CiRA.

[292] 2. Дифференциация iPS клеток в НРС

[293] Дифференциацию iPS клеток в гемопоэтические клетки-предшественники (НРС) проводили согласно способу, раскрытому в WO 2017/221975.

[294] 3. Ген $V\gamma 9V\delta 2$

[295] Использовали T-клеточный рецептор $V\gamma 9V\delta 2$, полученный из клона G115 $\gamma\delta$ T-клеток ($V\gamma 9V\delta 2$ TCR G115). Нуклеиновая кислота, включающая ген, кодирующий $V\gamma 9V\delta 2$ TCR G115, который кодирует SEQ ID NO: 44, содержит гены, как показано в Таблице 6. Нуклеиновую кислоту синтезировали искусственно.

Таблица 6

Порядок начиная с N-конца	Гены	Нумерация остатков согласно SEQ ID NO: 44.
---------------------------	------	--

1	(на основе G115) TRG	1-315
2	P2A	316-337
3	(на основе G115) TRD	338-629

[296]

MVSL LHASTLAVL GALCVYGAGHLEQPQISSTKTL SKTARLECVVSGITISATSVYWYRE
 RPGEVIQFLV SISYDGTVRKESGIPSGKFEVD RIPETSTSTLTIHNVEKQDIATYYCALWEA
 QQELGKKIKVFGPGTKLIITDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLEKFFPDVI
 KIHWEKKSNLILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTVP EKSLDKEHRCIVRHENNKNGVD
 QEIPFPPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTL LLLQLTNTSAYMYLLLLLKS VVYFAITCCLL
 RRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMERISSLIHLSLFWAGVMSAIELVPE
 HQTVPV SIGVPATLRCSMKGEAIGNYYINWYRKTQGNMTFIYREKDIYGPFGKDNFQGG
 DIDI AKNLAVLKILAPSERDEGSYYCACDTLGMGGEYTDKLI FGKGTRVTVEPRSQPHTK
 PSVFVMKNGTNVACL VKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSGKYNAV KLGKYEDS
 NSVTCSVQH DNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNM
 MSLTVLGLRMLFAKTVAVNFL LTAKLFFL (SEQ ID NO: 44).

[297] 4. *Получение ретровирусного вектора, несущего ген V γ 9V δ 2.*

[298] Использовали лентивирусный вектор pLVSIN-Ub, и этот вектор создавали путем удаления последовательности, кодирующей ген устойчивости к неомицину, из вектора pLVSIN-CMV Neo (Clontech Laboratories, Inc.) и замены промотора CMV промотором человеческого убиквитина. Искусственную олиго ДНК синтезировали согласно Таблице 6. Ген V γ 9V δ 2 включали в сайт мультиклонирования ретровирусного вектора pLVSIN-Ub. С использованием этой плазмиды, клеточной линии Lenti-XTM 293T и Lenti-XTM Packaging Single Shots (VSV-G) компании Clontech Laboratories, Inc. получали лентивирусный вектор pLVSIN-Ub.

[299] 5. *Производство клеток V γ 9V δ 2T из iPS клеток*

[300] iPS клетки получали в 1. *Препарат iPS клеток* инфицировали ретровирусным вектором, полученным в пункте 4. *Получение ретровирусного вектора, несущего ген V γ 9V δ 2*, несущий ген V γ 9V δ 2 Эти клетки дифференцировали в Т-клетки в соответствии с известным способом (как описано в WO2017/221975) таким же образом, как в Примере 1, для получения V γ 9V δ 2T клеток, полученных из iPS-клеток. 500 нг/мл ОКТ3 (TakaraBio) использовали в качестве антитела к CD3 на стадии дифференцировки. (Обратите внимание, что V γ 9V δ 2T клетки, полученные из iPS-клеток, полученные из iPS-клеток, также называются в настоящем документе «i γ 9 δ 2T клетками».) В полученных i γ 9 δ 2T клетках измеряли экспрессию CD3, γ δ TCR, V γ 9 и V δ 2 на поверхности клеточной мембраны с помощью проточного цитометра (BD FACSAriaTM Fusion, производства BD Biosciences (Фиг. 5).

ПРИМЕР 4

[301] Производство Т-клеток анти-Мезотелин-CAR/IL-15 γ δ T, полученных из iPS клеток

[302] 1. Ген анти-мезотелин-CAR

[303] Нуклеиновые кислоты, включающие ген, кодирующий анти-мезотелин-CAR, были синтезированы искусственно. Было синтезировано 11 образцов искусственных нуклеиновых кислот для трансфекции в $\gamma\delta$ T-клетки или $\gamma\delta 2$ T-клетки с использованием генов, перечисленных в Таблице 7.

Таблица 7

Сокращение	Порядок начиная с N-конца	ген
ssVH	1	Ведущая последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина
P4 scFv (P4)	2	Вариабельная область тяжелой цепи антитела к мезотелину (P4)
	3	Линкер GILGSGGGGSGGGGSGGGGS
	4	Вариабельная область легкой цепи антитела к мезотелину (P4)
CD8шарнир/TM	5	Последовательность, происходящая из CD8 (включая трансмембранную область)
CD28	6a (любой)	Область внутриклеточного домена CD28
41BB	6b (или)	Область внутриклеточного домена 4-1BB
CD3z	7	Область внутриклеточного домена CD3 ζ
P2A	8	P2A
IL2sp или IL15Rasp	9 (с/без)	Сигнальный пептид
mIL15/Ra, mIL15/Ra-LSP, sushi15 или sIL15-LSP	10	IL-15
P2A	11 (с/без)	P2A
endosp	12	Сигнальный пептид
CCL19	13 (с/без)	CCL19

[304] 2. Гены IL-15

[305] Искусственная нуклеиновая кислота содержала ген, кодирующий каждую

версию IL-15. Гены вариантов IL-15 показаны в Таблице 8.

Таблица 8

Сокращение	Порядок начиная с N-конца	Гены	SEQ ID NO:
mIL15/Ra (с IL2sp)	1	IL2sp (SEQ ID NO: 6)	28
	2	С-концевая последовательность человеческого IL-15	
	3	Пептидный линкер (SEQ ID NO: 32)	
	4	С-концевая последовательность человеческого IL-15RA	
sushi15 (с IL15Rasp)	1	IL15Rasp (SEQ ID NO: 7)	29
	2	sushi15 (SEQ ID NO: 10)	
	3	Пептидный линкер (SEQ ID NO: 32)	
	4	С-концевая последовательность человеческого IL-15RA	
mIL15/Ra-LSP	1	IL-15Ra-LSP	9
	2	Пропептид IL-15	
	3	С-концевая последовательность человеческого IL-15	
	4	Пептидный линкер (SEQ ID NO: 32)	
	5	С-концевая последовательность человеческого IL-15RA	
sIL15-LSP	1	IL-15Ra-LSP	11
	2	Пропептид IL-15	
	3	С-концевая последовательность человеческого IL-15	

[306] 1^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-IL2sp-mIL15/Ra в этом порядке от N-конца.

[307] 2^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-mIL15/Ra-LSP в этом порядке от N-конца.

[308] 3^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-IL15Rasp-sushi15 в этом порядке от N-конца.

[309] 4^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-sIL15-LSP в этом порядке от N-конца.

[310] 5^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-IL2sp-mIL15/Ra-P2A-endosp-CCL19 в этом порядке от

N-конца.

[311] 6^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-mIL15/Ra-LSP-P2A-endosp-CCL19 в этом порядке от N-конца.

[312] 7^й искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-IL15Rasp-sushi15-P2A-endosp-CCL19 в этом порядке от N-конца.

[313] 8^й искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-41BB-CD3z-P2A-sIL15-LSP-P2A-endosp-CCL19 в этом порядке от N-конца.

[314] 9^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-CD28-CD3z-P2A-IL15sp-sushi15-P2A-endosp-CCL19 в этом порядке от N-конца.

[315] Кроме того, были получены еще 2 образца с использованием DAP10 и TNFR2 соответственно в качестве внутриклеточного домена между CD8шарнир/TM и CD3z.

[316] 10^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-DAP10-CD3z-P2A-IL2sp-mIL15/Ra в этом порядке от N-конца.

[317] 11^й паттерн искусственной нуклеиновой кислоты содержит ssVH-P4-CD8шарнир/TM-TNFR2-CD3z-P2A-IL2sp-mIL15/Ra в этом порядке от N-конца.

[318] 2. *Производство ретровирусного вектора, несущего ген анти-мезотелин-CAR.*

[319] Клетки Phoenix A, ретровирусная упаковочная клеточная линия (ATCC), выращивали до 50-70% слияния в DMEM, 20% FBS и Pen/Strep. Комплексы ДНК готовили с использованием соответствующих плазмид, содержащих структуру нуклеиновых кислот, включающую ген, кодирующий конструкцию CAR, описанную выше, хелперные плазмиды gag-pol и pVSVG и реагент для трансдукции Fugene HD (Promega) в соответствии с протоколом производителя. Вирус собирали через 16-24 часа после трансфекции, разделяли на аликвоты и замораживали для дальнейшего использования.

[320] 3. *Производство T-клеток анти-Мезотелин-CAR/IL-15 γ δ T, полученных из iPS клеток*

[321] $i\gamma\delta$ T клетки или $i\gamma9\delta2$ T клетки размораживали и выдерживали в течение 3 дней в среде (DMEM 10% FCS и добавки, перечисленные в Таблице 10). Колбы на ночь при 4°C покрывали ретронектином (Takara) и антителом к CD3 (UCHT1). $i\gamma\delta$ T-клетки или $i\gamma9\delta2$ T-клетки промывали, ресуспендировали в DMEM 10% FCS и добавках, указанных в Таблице 9, и переносили в колбы, покрытые ретронектином и анти-CD3-антителами, на 72 часа для активации.

[322] $i\gamma\delta$ T-клетки или $i\gamma9\delta2$ T клетки трансдуцировали каждым набором нуклеиновых кислот, содержащим ген, кодирующий конструкцию CAR, описанную выше, с использованием спинокуляции. Вкратце, $i\gamma\delta$ T-клетки или $i\gamma9\delta2$ T-клетки переносили в планшеты, покрытые ретронектином (приготовленные в соответствии с инструкциями производителя) и спинокулировали (2000 g; 32°C) CAR, кодирующий псевдотипированный вирус pVSVG, описанный выше. Клетки инкубировали в DMEM

10% FCS и добавках, описанных в Таблице 10, в течение ночи при 37°C, 5% CO₂, трансдукцию повторяли на следующий день, и клетки размножали в DMEM 10% FCS и добавках, описанных в Таблице 10.

[323] Трансдуцированные клетки дополнительно размножали с использованием активации ретронектином/антителом к CD3, как описано выше, в DMEM 10% FCS и добавках, перечисленных в Таблице 10, и переносили в G-REX на 3 день после активации. На День 7 после активации клетки собирали и замораживали для дальнейшего использования. (Обратите внимание, что анти-Мезотелин-CAR/IL-15 γ δ T-клетки, полученные из iPS-клеток, полученных из i γ δ T-клеток, также упоминаются в настоящем документе как «iMeso-CAR/IL-15 γ δ T клетки», и анти-Мезотелин-CAR/IL-15 γ δ T-клетки, полученные из iPS-клеток, полученных из i γ 9 δ 2T-клеток, также называются в настоящем документе «iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клетками»).

ПРИМЕР 5

Экспансионная культура iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток

[324] Используя способ, аналогичный описанному в Примере 3, проводили размножение iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток (P4-41BB-mIL15/Ra - CCL19), полученных в Примере 5. Использовали среду, содержащую добавку, содержащую цитокин, из Таблицы 9 вместо добавки, содержащей цитокин, из Таблицы 4, и добавку, содержащую цитокин, из Таблицы 10 вместо добавки, содержащей цитокин, из Таблицы 5.

Таблица 9

Наименование продукта	Производитель	Окончательная концентрация
Добавки инсулина, трансферрина и селена	Invitrogen	1 x
2-фосфат аскорбиновой кислоты	Sigma	50 мкг/мл
IL-7	Peptotech	10 нг/мл
IL-15	Peptotech	10 нг/мл
IL-21	Peptotech	20 нг/мл
IL-18	MBL	50 нг/мл
Z-VAD-FMK	R&D	10 мкМ

Таблица 10

Наименование продукта	Производитель	Окончательная концентрация
Добавки инсулина, трансферрина и селена	Invitrogen	1 x
2-фосфат аскорбиновой кислоты	Sigma	50 мкг/мл
IL-7	Peptotech	10 нг/мл

IL-15	Peprotech	10 нг/мл
-------	-----------	----------

[325] Осуществляли размножение iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток, полученных в Примере 4.

[326] Пролиферацию iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток наблюдали при стимуляции антителом к CD3 (ОКТ3) (Фиг. 6).

ПРИМЕР 6

[327] 1. *Экспрессия мезотелина линиями клеток человека MiaPaCa-2, MiaPaCa-2 Msln+, Capan-2 и GSU.*

[328] Линии клеток человека MiaPaCa-2 (ATCC; CRL-1420), MiaPaCa-2 Msln+ (полученные из MiaPaCa-2 путем сверхэкспрессии мезотелина с использованием вирусного вектора), Capan-2 (ATCC, HTB-80) и GSU (RIKEN, RBC2278) культивировали в соответствии с рекомендациями поставщиков. Для проточной цитометрии клетки собирали с использованием фермента TrypLE Express (Gibco; #12605010), промывали и окрашивали первичным немеченым антителом к мезотелину (Rockland; #MN1200301A88) и вторичным APC-конъюгированным антителом к IgG мыши (Biolegend; #405308). Мертвые клетки окрашивали с использованием фиксируемого красителя жизнеспособности (eBiosciences; #65-0866-14), и клетки фиксировали перед получением на FACS Fortessa (BD Biosciences). Анализ проводили с помощью FlowJo. MiaPaCa-2 имели очень низкий или отрицательный уровень экспрессии мезотелина, тогда как Capan-2, GSU и MiaPaCa-2 Msln+ демонстрировали высокий уровень экспрессии мезотелина (Фиг. 7А).

[329] 2. *Цитотоксичность in vitro анти-Мезотелин-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток, полученных из iPS-клеток, против клеточных линий человека MiaPaCa-2, MiaPaCa-2 Msln+, Capan-2 и GSU.*

[330] Все линии клеток-мишеней (MiaPaCa-2, MiaPaCa-2 Msln+, Capan-2 и GSU) отделяли, промывали, ресуспендировали в среде для анализа и подсчитывали перед высеванием в трех экземплярах на покрытые коллагеном планшеты с плоским дном. Клетки инкубировали в течение по меньшей мере 2 часов при 37°C и 5% CO₂ для полного прикрепления.

[331] Meso iCAR-T размораживали, промывали, ресуспендировали в среде для анализа и подсчитывали перед совместным культивированием с клетками-мишенями при указанном соотношении эффектора к мишени (E:T) (т.е. 3:1, 1:1, 0,3:1, 0,1:1) в течение 48 часов при 37°C и 5% CO₂. Уничтожение клеток-мишеней клетками iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T оценивали с использованием люминесцентного анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo (Promega) в соответствии с инструкциями производителя. % уничтожения рассчитывали по следующему уравнению:

$$\% \text{ уничтожения} = \frac{\text{средняя люминесценция совместной культуры} - \text{средняя люминесценция только эффекторных клеток}}{\text{средняя люминесценция только клеток-мишеней}}$$

средняя люминесценция только клеток-мишеней

[332] Результаты показывают, что клетки iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T со всеми

версиями IL-15 эффективно уничтожают линии клеток, которые естественным образом экспрессируют мезотелин (GSU, Саран-2) или которые были созданы для экспрессии мезотелина (MiaPaCa-2 Msln+), но не Мезотелин-отрицательные клетки MiaPaCa-2 *in vitro*, и их уничтожение значительно увеличивается по сравнению с нетрансдуцированными контрольными клетками (UTD) (iγ9δ2Т-клетками) (Фиг. 7В).

ПРИМЕР 7

[333] 1. Оценка противоопухолевой эффективности *in vivo* анти-мезотелин-CAR/IL-15γδТ-клеток, полученных из iPS-клеток, несущих различные костимулирующие домены, в *n/k* модели ксенотрансплантата Саран-2.

Самкам мышей NSG в возрасте 6-16 недель (Jackson Labs) подкожно инокулировали 4×10^6 жизнеспособных опухолевых клеток Саран-2 в 100 мкл McCoys 5A+матригеле. Через три недели после имплантации размер опухоли достиг около 50 мм³, и мышей рандомизировали на группы лечения с одинаковым средним размером опухоли (в среднем ~100 мм³; n=6 на группу). На следующий день 1×10^6 свежепродуцированных iMeso-CAR/IL-15γ9δ2Т-клеток вводили внутриопухолево. Массу тела измеряли два раза в неделю для мониторинга токсичности. Размер опухоли измеряли два раза в неделю и объем опухоли рассчитывали по формуле: объем опухоли (мм³)=длина x ширина x высота x 0,5236. См. Таблицу 11 ниже.

Таблица 11

Группа	Название	Связыватель	Костимулирующий домен	Бронирование	Номер ячейки (CAR положительный; *10 ⁶)
1	PBS	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
2	P4-41BB-mIL15/Ra	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra	1
3	P4-CD28-mIL15/Ra	P4 scFv (VH-VL)	CD28	mIL15/Ra	1
4	P4-DAP10-mIL15/Ra	P4 scFv (VH-VL)	DAP10	mIL15/Ra	1
5	P4-TNFR2-mIL15/Ra	P4 scFv (VH-VL)	TNFR2	mIL15/Ra	1

[334] Наилучшая противоопухолевая эффективность наблюдалась у iMeso-CAR/IL-15γδ Т-клеток, несущих костимулирующий домен 4-1BB или CD28 (Фиг. 8).

ПРИМЕР 8

[335] 1. Оценка противоопухолевой эффективности *in vivo* анти-Мезотелин-CAR/IL-15γδТ-клеток полученных из iPS-клеток, несущих различные версии IL-15, и сравнение костимулирующих доменов 4-1BB и CD28 в *n/k* модели ксенотрансплантата

Сарап-2.

[336] Самкам мышей NSG в возрасте 6-16 недель (Jackson Labs; n=6/группу) подкожно инокулировали 4×10^6 жизнеспособных опухолевых клеток Сарап-2 в 100 мкл McCoys 5A+матригеле. Через три недели после имплантации, когда размер опухоли достиг около 100 мм³, мышей рандомизировали на группы лечения с одинаковым средним размером опухоли (в среднем ~100 мм³; n=6 на группу). На следующий день 5×10^6 (группа 1) или $1,5 \times 10^6$ (группа 2) криоконсервированных iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток вводили внутриопухолево. Массу тела измеряли два раза в неделю для мониторинга токсичности. Размер опухоли измеряли два раза в неделю и объем опухоли рассчитывали по формуле: объем опухоли (мм³)=длина x ширина x высота x 0,5236. См. Таблицы 12-14.

[337] Таблица 12: Группа 1. См. также Фиг. 9А и Фиг. 9В.

Группа	Название	Связыватель	Костим . домен	Бронирование 1	Бронирование 2	Номер ячейки (CAR положительный; *10 ⁶)	RANK (d32)
1	PBS	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	9
2	P4-41BB-mIL15/Ra	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra	Н/Д	5	2
3	P4-41BB-mIL15/Ra-LSP	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra-LSP	Н/Д	5	6
4	P4-41BB-sushi15	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	Н/Д	5	4
5	P4-41BB-sIL15-LSP	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	sIL15-LSP	Н/Д	5	7
6	P4-41BB-mIL15/Ra-CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra	CCL19	5	5
7	P4-41BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra-LSP	CCL19	5	8
8	P4-41BB-sushi15-CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	CCL19	5	1

	CCL19						
9	P4-41BB- sIL15-LSP - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	sIL15-LSP	CCL19	5	3

[338] Таблица 13: Группа 2. См. также Фиг. 9С и Фиг. 9D.

Группа	Название	Связыва тель	Костим. домен	Брониров ание 1	Брониро вание 2	Номер ячейки (CAR положител ьный; *10 ⁶)	RANK (d32)
1	PBS	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	9
2	P4-41BB- mIL15/Ra	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra	Н/Д	1,5	5
3	P4-41BB- mIL15/Ra -LSP	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra -LSP	Н/Д	1,5	8
4	P4-41BB- sushi15	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	Н/Д	1,5	2
5	P4-41BB- sIL15-LSP	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	sIL15-LSP	Н/Д	1,5	3
6	P4-41BB- mIL15/Ra - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra	CCL19	1,5	4
7	P4-41BB- mIL15/Ra -LSP - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/Ra -LSP	CCL19	1,5	6
8	P4-41BB- sushi15 - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	CCL19	1,5	1
9	P4-41BB- sIL15-LSP - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	sIL15-LSP	CCL19	1,5	7

[339] Таблица 14. Также см. Фиг. 9Е

Группа	Название	Связыватель	Костим. домен	Бронирование 1	Бронирование 2	Номер ячеек (CAR положительный; *10 ⁶)	RANK (d32)
1	PBS P4-41BB-	Н/Д P4 scFv	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	3
2	sushi15 - CCL19 P4-CD28-	(VH- VL) P4 scFv	4-1BB	Sushi15	CCL19	5	1
3	sushi15 - CCL19	(VH- VL)	CD28	Sushi15	CCL19	5	2

[340] iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T клетки, несущие версии IL-15 sushi15 или mIL15/Ra, показали в целом лучшую противоопухолевую эффективность, независимо от использованного количества клеток (т.е. 5×10^6 или $1,5 \times 10^6$; Фиг. 9E). iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клетки, несущие костимулирующий домен 4-1BB, показали лучший контроль роста опухоли по сравнению с iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клетками, использующими костимулирующий домен CD28 (Фиг. 9E).

ПРИМЕР 9

[341] 1. Оценка противоопухолевой эффективности *in vivo* анти-мезотелин-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток, полученных из iPS клеток, бронированных различными версиями IL-15 и CCL19, в *n/k* модели ксенотрансплантата GSU.

[342] Самкам мышей NSG в возрасте 6-16 недель (Jackson Labs; n=6/группа) подкожно инокулировали 2×10^6 жизнеспособных опухолевых клеток GSU в Матригель:PBS 1:1. Через 7 дней после имплантации размер опухоли достигал около 100 мм³, и мышей рандомизировали на группы лечения с одинаковым средним размером опухоли (в среднем ~100 мм³; n=6 на группу). На следующий день 10×10^6 криоконсервированных iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток вводили внутриопухолево. Массу тела измеряли два раза в неделю для мониторинга токсичности. Размер опухоли измеряли два раза в неделю и объем опухоли рассчитывали по формуле: объем опухоли (мм³)=длина x ширина x высота x 0,5236. См. Таблицу 15 ниже и Фиг. 10.

Таблица 15

Группа	Название	Связыватель	Костим. домен	Бронирование 1	Бронирование 2	Номер ячеек (CAR положительный; *10 ⁶)	RANK (d25)
--------	----------	-------------	---------------	----------------	----------------	--	------------

1	PBS	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	5
2	P4-41BB- mIL15/Ra - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15	CCL19	10	1
3	P4-41BB- mIL15/Ra- LSP-CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15- LSP	CCL19	10	4
4	P4-41BB- sushi15 - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	CCL19	10	2
5	P4-41BB- sIL15-LSP - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	sIL15- LSP	CCL19	10	3

[343] Внутривентральное введение 10×10^6 iMeso-CAR/IL-15 γ δ 2T-клеток привело к уничтожению опухолей, в то время как внутривенное введение 10×10^6 Meso iCAR-T продемонстрировало контроль опухоли, но не привело к полному ответу. iMeso-CAR/IL-15 γ δ 2T-клетки, бронированные sushi15 - CCL19 или mIL15/Ra - CCL19, показали себя сравнительно хорошо.

ПРИМЕР 10

[344] 1. Оценка противоопухолевой эффективности *in vivo* анти-мезотелин-CAR/IL-15 γ δ 2T-клеток, полученных из iPS клеток, бронированных различными версиями IL-15 и CCL19, в в/б модели ксенотрансплантата GSU.

[345] Люциферизованную клеточную линию GSU получали с использованием вируса RediFect Red-FLuc-Puromycin от Perkin Elmer (CLS960002). Трансдукцию проводили в течение ночи в присутствии 1,6 мкг/мл полибреана (Millipore). Клетки трансдуцировали вирусом, несущим плазмиду, кодирующую CD19 человека, под контролем промотора EF1a и устойчивости к пурамицину. Клетки GSU-RedLuc положительно отбирали с использованием пурамицина.

[346] Самкам NSG в возрасте 6-16 недель (Jackson Labs; n=4/группа) внутривентральное инокулировали 5×10^6 жизнеспособных клеток GSU-RedLuc в Матригель:PBS 1:1. Через два дня после имплантации рост опухоли контролировали с помощью билюминесцентной визуализации с использованием спектра системы визуализации In Vivo (IVIS) (Perkin Elmer) и анализировали с использованием программного обеспечения визуализации IVIS (Perkin Elmer) для рандомизации. Значения выражаются в фотонах/с. Вкратце, за шесть минут до визуализации животным вводили внутривентральное (в/б) инъекцию 150 мг/кг калиевой соли D-люциферина (Promega). Анестезию осуществляли ингаляционным изофлураном. На следующий день после рандомизации мышам вводили 10×10^6 жизнеспособных iMeso-CAR/IL-15 γ δ 2T-клеток

внутрибрюшинно или внутривенно, и рост и вес опухоли контролировали дважды в неделю до конца исследования. См. Таблицу 16 ниже и Фиг. 11.

Таблица 16

Группа	Название	Связыва тель	Костим. домен	Брониро вание 1	Брониро вание 2	Номер ячейки (CAR положительн ый; *10 ⁶)	Путь введен ия
1	PBS	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	в/б
2	P4-41BB- mIL15/Ra - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/ Ra	CCL19	10	в/б
3	P4-41BB- sushi15 - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	CCL19	10	в/б
4	P4-41BB- mIL15/Ra - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	mIL15/ Ra	CCL19	10	в/в
5	P4-41BB- sushi15 - CCL19	P4 scFv (VH-VL)	4-1BB	Sushi15	CCL19	10	в/в

[347] 10×10^6 iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток мощно ингибировали рост опухоли в внутрибрюшинном введении GSU-RedLuc независимо от используемой версии IL-15 (sushi15 по сравнению с mIL15/Ra). Внутрибрюшинное введение iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток приводило к быстрому и полному уничтожению опухоли, тогда как внутривенное введение iMeso-CAR/IL-15 γ 9 δ 2T-клеток значительно ингибировало рост опухоли по сравнению с контрольными клетками, обработанными PBS.

ПРИМЕР 11

[348] *Повторите антигенную стимуляцию в мезотелин-положительных (Msln) опухолях.*

[349] Приблизительно 100000 анти-Msln CAR-T-клеток, полученных из iPSC, совместно экспрессирующих CAR к Msln вместе с модулятором TGF β (например, TGF β R2-VH или dnTGF β R2) или контрольным VH к GFP (Msln-контрольный VH), культивировали совместно в дубликate с 40000 опухолевых клеток MiaPaca-2, сверхэкспрессирующими Msln человека, в присутствии или в отсутствие TGF- β (R&D Systems, 10 нг/мл). TGF β R2-VH секретировался CAR-T-клеткой, тогда как dnTGF β R2 был связан с мембраной CAR-T-клетки. Каждые 3-4 дня половину CAR-T-клеток на лунку переносили в новый планшет с опухолевыми клетками в тех же условиях (с или без TGF- β

10 нг/мл). Супернатанты собирали и замораживали для последующей оценки. CAR-T-клетки подсчитывали с помощью проточной цитометрии и проводили фенотипирование FACS в выбранные моменты времени (Фиг. 12А).

[350] Жизнеспособность опухолевых клеток оценивали с помощью CellTiterGlo (Promega) согласно протоколу производителя. Планшеты анализировали с использованием планшет-ридера Pherastar. Процент уничтожения оценивали по следующей формуле:

$$[351] \% \text{ уничтожения} = \left(1 - \frac{\text{сигнал из тестируемой лунки}}{\text{сигнал из контрольной лунки}} \right) \times 100$$

[352] Контрольные лунки содержали только опухолевые клетки без эффекторных (т.е. CAR-T) клеток. Процент цитотоксичности показан на Фиг. 12В.

[353] Подсчет клеток проводили путем исключения мертвых клеток с использованием красителя Sytox Red (ThermoFisher, в соответствии с протоколом производителя), и равные объемы клеточной суспензии получали на проточном цитометре Fortessa (BD Biosciences) с использованием устройства HTS. Живые клетки CAR-T подсчитывали путем гейтирования живых клеток, отдельных клеток и размера. Результаты экстраполировали для получения количества клеток на лунку.

[354] Было замечено, что после нескольких циклов рестимуляции клетками-мишенями, имитирующих хроническую активацию антигена, TGF- β индуцировал ингибирование функции CAR-T-клеток (т.е. уничтожение) и ингибировал пролиферацию CAR-T-клеток. Только CAR-T-клетки, экспрессирующие модулятор TGF β (например, секрета димера VH TGF β R2 или экспрессия мембраносвязанного dnTGF β R2), но не контрольный VH, были защищены от ингибирующего действия TGF- β (10 нг/мл).

[355] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области техники, к которой принадлежит данная технология.

[356] Настоящая технология, иллюстративно описанная в настоящем документе, может быть успешно реализована на практике в отсутствие какого-либо элемента или элементов, ограничений или ограничений, конкретно не раскрытых в настоящем документе. Так, например, термины «содержащий», «включающий», «содержащий» и т. д. следует читать расширительно и без ограничений. Кроме того, термины и выражения, используемые в настоящем документе, использовались в качестве терминов описания, а не ограничения, и использование таких терминов и выражений не подразумевает исключения каких-либо эквивалентов показанных и описанных функций или их частей, но признается, что в рамках заявленной технологии возможны различные модификации.

[357] Таким образом, следует понимать, что материалы, способы и примеры, представленные в настоящем документе, являются репрезентативными для предпочтительных аспектов, являются иллюстративными и не предназначены для ограничения объема настоящей технологии.

[358] Настоящая технология описана в настоящем документе широко и в общих

чертах. Каждый из более узких видов и подродовых групп, подпадающих под общее описание, также составляет часть настоящей технологии. Это включает общее описание настоящей технологии с оговоркой или отрицательным ограничением, исключающим любой объект из рода, независимо от того, указан или нет исключенный материал конкретно в настоящем документе.

[359] Кроме того, когда признаки или аспекты настоящей технологии описываются с точки зрения групп Маркуша, специалисты в данной области техники поймут, что настоящая технология также тем самым описывается с точки зрения любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша.

[360] Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в настоящем документе, прямо включены посредством ссылки во всей своей полноте в той же степени, как если бы каждая из них была включена посредством ссылки отдельно. В случае противоречий преимущественную силу имеет настоящая спецификация, включая определения.

[361] Другие аспекты изложены в следующей формуле изобретения.

Список последовательностей

Таблица результатов

1	AA	P4 scFv (без сигнального пептида)
2	AA	Сигнальный пептид ssVH (sp)
3	AA	ssVHsp-P4 scFv
4	AA	Пептидный линкер (P4 scFv-CD8шарнир)
5	AA	Пептид P2A с линкером GSG
6	AA	IL2sp
7	AA	IL15Rasp
8	AA	mIL15/Ra (без IL2sp)
9	AA	mIL15/Ra-LSP
10	AA	Sushi15 (без IL15Rasp)
11	AA	sIL15-LSP
PRP	AA	Пропептид IL15
LSP	AA	IL15LSP
12	AA	Endosp
13	AA	CCL19
14	AA	IL2sp-mIL15/Ra-P2A- endosp-CCL19
15	AA	СМ. НИЖЕ
16	AA	CDR1_VH
17	AA	CDR2_VH
18	AA	CDR3_VH

19	AA	CDR1_VL	
20	AA	CDR2_VL	
21	AA	CDR3_VL	
22	AA	VH	
23	AA	VL	
24	AA	4-BB	
25	AA	CD3z(дт)	
26	AA	CD8 шарнир	
27	AA	Домен CD8 ТМ	
28	AA	IL2sp-mIL15/Ra	
29	AA	IL15/Rasp-sushi15	
30	AA	Пептидный линкер	15AAs
31	AA	IL15Rasp-sushi15/Ra-P2A- endosp-CCL19	
32	AA	Пептидный линкер (IL15-Ra/sushi-IL15)	26 AA
33	AA	Пептидный линкер	20 AA
34*	AA	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra	ДНК: SEQ ID NO: 37
53	AA	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP	ДНК: SEQ ID NO: 58
35*	AA	ssVHsp-P4-BB-sushi15	ДНК: SEQ ID NO: 38
54	AA	ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP	ДНК: SEQ ID NO: 59
36*	AA	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-CCL19	ДНК: SEQ ID NO: 39
55	AA	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19	ДНК: SEQ ID NO: 60
15*	AA	ssVHsp-P4-BB-sushi15-CCL19	ДНК: SEQ ID NO: 40
56	AA	ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19	ДНК: SEQ ID NO: 61
57	AA	ssVHsp-P4-CD28-sushi15 -CCL19	
37*	ДНК	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra	
38*	ДНК	ssVHsp-P4-BB-sushi15	
39*	ДНК	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-CCL19	
40*	ДНК	ssVHsp-P4-BB-sushi15-CCL19	
41	AA	Peptide linker (VH-VL, IL15-Ra)	17AAs
42	ДНК	ssVHsp-P4-CD8hinge/TM-BB-CD3z	
43	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z	
44	AA	Vg9Vd2TCR	
45	AA	Пептидный линкер VH-VL в P4 scFv	20AAs (GILGSSG...)
46	AA	ssVHsp-P4-CD8-BB-CD3z	

47	AA	LSP
48	AA	Пропептид IL15
49		Отсутствие
50	ДНК	ssVHsp-P4-BB (версия 1 с оптимизацией кодонов)
51	ДНК	ssVHsp-P4-BB (версия 2 с оптимизацией кодонов)
52	ДНК	ssVHsp-P4-BB (версия 3 с оптимизацией кодонов)
58	ДНК	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP
59	ДНК	ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP
60	ДНК	ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19
61	ДНК	ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19
62	ДНК	ssVHsp-P4-CD28-sushi15 -CCL19
63	AA	Домен CD8 TM
64	AA	CD8 шарнир
65	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
66	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
67	AA	ssVHsp P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
68	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
69	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
70	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
71	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
72	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
73	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
74	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z
75	AA	ssVHsp-P4-CD8hinge-TM-41BB-CD3z

SEQ ID NO: 1/AA/P4 scFv (без сигнального пептида)

QVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGRTYY
 RSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARGMMTYYYGMD
 VWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGQPVLQSSSLASPGASASLTCTLRSGI
 NVGPYRIYWYQQKPGSPPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGVLLISGLR
 SEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQTLTVLS

SEQ ID NO: 2/AA/сигнальный пептид ssVH (sp)

MDWTWRILFLVAAATGAHS

SEQ ID NO: 3/AA/ssVHsp-P4 scFv

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAT
WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
TAVYYCARGMMTYYYGMDVWQGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
SSSLASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLS

SEQ ID NO: 4/AA/линкер (P4 scFv-CD8 шарнир))

RAAA

SEQ ID NO: 5/AA/пептид P2A

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

SEQ ID NO: 6 /AA/IL2 sp.

MYRMQLLSICIALSLALVTNS

SEQ ID NO: 7 /AA/IL15Rasp

MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRG

SEQ ID NO: 8 /AA/mIL15/Ra (включая линкер 26aa) (без IL2sp)

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESG
DASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGG
GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYRERYICNSGFKRK
AGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRAPPSTVTAGVTPQPESLSPSG
KEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTA
SASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEA
LPVTWGTSSRDEDLENCSHHL

SEQ ID NO: 9 /AA/mIL15/Ra-LSP (IL15LSP-(пропептид IL15)-IL15-
26аалинкерIL15Ra(FL))

MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDL
KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILA
NNSLSSNGNVTEGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSG
GGGSGGGSLQITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKA
TNVAHWTTTPSLKCIRDPALVHQRAPPSTVTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTA
ATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTAKNWELTASASHQPPGVYPQG
HSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDED
LENCSHHL

SEQ ID NO: 10 /AA/sushi15 (включая линкер 26aa) (без IL15Rasp)

ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAH
WTTPSLKCIRSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDA
TLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTEG
CKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

SEQ ID NO: 11 /AA/ sIL15-LSP (IL15LSP-(IL15пропептид)-IL15)

MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDL

KKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILA
NNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

SEQ ID NO: 47 /AA/IL15LSP

MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEA

SEQ ID NO: 48 /AA/пропептид IL15

GIHVFILGCFSAGLPKTEASEQ

ID NO: 12 (endosp)

MALLLALSLLVLWTSPAPTLS

SEQ ID NO: 13 /AA/CCL19

GTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRNHFYLLIKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQ
PWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS

SEQ ID NO: 14 /AA/ IL2sp-mIL15/Ra-P2A-endsp-CCL19 (включая линкер 26
аминокислот)

MYRMQLLSICIALSLALVTNSATSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVH
PSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSSNGNVTESGCKECELEE
KNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQITCPPPMSVEHAD
IWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQ
RPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTT
EISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSL
ACYLKSQRTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENCSHHLGSGATNFSLLKQAGD
VEENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLSTGTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRNHFYLLIKD
GCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS

SEQ ID NO: 24 /AA/4-1BB костимулирующий домен

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

SEQ ID NO: 25 /AA/CD3z(дт) внутриклеточный домен

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRK
NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA
LPPR

SEQ ID NO: 26 /AA/CD8 шарнир

PTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

SEQ ID NO: 27 /AA/домен CD8TM

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN

SEQ ID NO: 43/AA/ ssVHsp-CD8шарнир-TM-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
WNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWyNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
TAVYYCARGMMTYYYGMDVWGQGTITVTVSSGIL
GSGGGGSGGGGSGGGGSGQPVLQSSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYQYQKP
GSPPYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHS
SAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL
DFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSC

RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG
GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDA
LHMQUALPPR

SEQ ID NO: 42/NA/ ssVHsp-CD8шарнир-ТМ-ВВ-CD3z

ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCTCGTCTGCTGCAACCGGAGCCCACAGCCAGGTGCAGCTC
CAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTACTCCTAGTCAGACATTGAGCTTACTTGTGCTATCAGCGGAGAC
TCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGAACTGGATTGGGCAGTCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGG
GTCGGACCTACTATCGGAGCAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCA
ATCCTGACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGACACAGCTGTGT
ACTATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACGTGTGGGGCCAGGGAACACTACTGTT
ACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGCGGCGGTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGG
GGTAGTCAACCTGTGCTGACCCAGAGCAGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCT
GTACACTGCGCTCCGGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCTCCCC
TCCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGGTGTGCCATCCCGATTT
AGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTCTCTGATCAGCGGACTCAGATCAGAGGACGA
AGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATAGCAGCGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGT
CTTGAGTGGGCCGCTGCACCTACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCAACTATCGCAT
CCCAACCACTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCGCGAGCCGGTGGCGCTGTGCATACTCGCGGAC
TTGATTTTGTGTGATTTTATATCTGGGCCCTTGGCCGAACTTGTGGAGTTCTCTGCTGTCTCTC
GTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAAAAACTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGC
GGCCCGTGCAGACCACACAGGAAGAAGATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCAGAGGAAGAAGAGGGCGG
CTGCGAGCTGCGAGTAAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATACCAGCAGGGTCAGAACCAGC
TCTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTAAGTGCAGCAAGAGAAGGGGACGCGAT
CCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGAGGGGCTCTATAACGAGCTCCAGAAGG
ACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTGGCATGAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGA
TGGCCTTACCAAGGGTGTCTACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCT
CCCCGATGA

SEQ ID NO: 28 /AA/ IL2sp-mIL15/Ra (IL2sp-IL15-26 aa линкер - IL15Ra(FL))

MYRMQLLSICIALSLALVTNSATSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVH
PSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEE
KNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQITCPPPMSVEHAD
IWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK CIRDPALVHQ
RPAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTA AIVPGSQLMPSKSPSTGTT
EISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSL
ACYLKSQRTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDEDLENC SHHL

SEQ ID NO: 29 /AA/ IL15Rasp-sushi15 (домен IL15Rasp-sushi-26 aa линкер - IL15)

MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHAD IWVKSYSLSRE
RYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNV AHWTTPSLK CIRSGGGSGGGGSGGGGSGGG
GSGGGSLQNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL
ESGDASIHTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

SEQ ID NO: 45/AA/Пептидный линкер в scFv P4 (20 АК)

GILGSGGGGSGGGGSGGGG

SEQ ID NO: 31 /AA/ IL15Rasp-sushi15-P2A-endosp-CCL19 (IL15Rasp-sushi домен-26
aa линкер-IL15-P2A-endosp-CCL19)

MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRE
 RYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRSGGGSGGGSGGGSGGG
 GSGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISL
 ESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS
 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALLLALLLVLTSPAPTLSTGNTDAEDCCLSVTQKP
 IPGYIVRNHFHYLLIKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRS
 S

SEQ ID NO: 32/AA/Пептидный линкер (26 AA)

SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQ

SEQ ID NO: 33/AA/Пептидный линкер (20 AA)

SGSGGGSGGGSGGGSLQ

SEQ ID NO: 34 /AA/ ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL2sp-mIL15/Ra (включая
 линкер 26aa)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGSGGGSGGGSGQPVLQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTP
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRSGATNFSLLKQA
 GDVEENPGPMYRMQLLSIALSLALVTNSATSNWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTE
 SDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNSLSSNGNVTESGCKECE
 ELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSLQITCPPPMSV
 EHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPA
 LVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPS
 TGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSA
 VSLLACYLKSQRTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELENCSSHHL

SEQ ID NO: 35 /AA/ ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15Rasp-sushi15-IL15
 (включая линкер 26aa)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGSGGGSGGGSGQPVLQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTP
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRSGATNFSLLKQA

GDVEENPGMAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLS
YSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRSGGGSGGGGSGGGGS
GGGGSGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQ
VISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMF
INTS

SEQ ID NO: 36 /AA/ ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL2sp-mIL15/Ra-P2A-
endosp-CCL19 (включая линкер 26 aa)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQ
SSSLASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTT
APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVI
TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSATNFSLLKQA
GDVEENPGPMYRMQLLSICIALSLALVTNSATSNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTE
SDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECE
ELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSLQITCPPPMSV
EHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPA
LVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGSQLMPSKSPS
TGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSA
VSLLACYLKSQRTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSSRDELENCSHHLGSGATNFSLLKQ
AGDVEENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLSGTNDACCLSVTQKPIPGYIVRNFHYLL
IKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS

SEQ ID NO: 15 /AA/ ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15Rasp-sushi15-IL15-
endosp-CCL19 (включая линкер 26 aa)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLTQ
SSSLASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTT
APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVI
TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSATNFSLLKQA
GDVEENPGMAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLS
YSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRSGGGSGGGGSGGGGS
GGGGSGGGSLQNWNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQ
VISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMF

INTSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLSGTND AEDCCLSV
 TQKPIPGYIVRNFHYLLIKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKM
 KRRSS

SEQ ID NO: 37 ДНК P4-BB-mIL15/Ra

atggactggacatggcggatactcttctcctcgtcgtcgtcgaaccggagcccacagccaggtgcagctccagcagcttggggc
 aggtttggtgactcctagtcagacattgagcttgacttgctatcagcggagactctgtttcatctaattctgcaacttggaaactggattcggca
 gtccccagccgggggctcagtggttgggtcggacactactcggagcaaatggtacaatgactatgcagtgagcgtcaaatcaagaat
 gagcatcaatcctgacacaagcaagaaccagtttagccttcagcttaataagcgtgactccagaggacacagctgtgactattgcgcgagag
 gcatgatgacatactattacggaatggacgtgtggggccagggaaactactgttacagtgcaagcggaaatcctcggtagcggaggcggcg
 gttccggcggaggggtagtggtggcggggtagtcaacctgtgctgacccagagcagctctcttagtgtagccagggtgcaagtgcaa
 gtcttacctgtacactgcgtccgggtattaatgtgggcccttaccgaatttactgttaccagcagaaaccaggtcccctcccagtatctgct
 gaactataagtctgactcagacaaacagcagggctccgggtgtgccatcccgatattagtggtcaaaggatgctagtcaaatgccggtgttc
 tctgatcagcggactcagatcagaggacgaagcagactattactgtatgattggcatagcagcgtcgtgtcttcggaggagggactcag
 ctactgtcttgagtcgggccgtgcacctaccactaccctgccccctgacccccactcctcccgaactatcgcacccaaccactctct
 ctgagaccgaagcctgtagaccgcagccgggtggcgtgtgcatactcgggacttgattttgcttgatatttatctgggcccccttg
 ccggaacttgaggattctctgctgtctctcgtaatcacccttattgtaacaaacgggggcgcaaaaaactctttacatttcaagcagccct
 ttatcggccctgcagaccacacaggaagaagatggctgcagctgcaggtcccagaggaagaagaggcggctgcgagctgcgagt
 aaagtgcagccggagcggcgtgacacctgataccagcagggctcagaaccagctctacaatgagctgaacctgggcagaaagagaggaat
 atgatgactcgacaagagaaggggacgcgatccagagatggggcgcaaacacggcggaaaaatccgcaggaggggctctataacg
 agctccagaaggacaagatggcagaagcctactcagaaatggcatgaaaggagagaaaggaggggaaaggccatgatggccttta
 ccaagggttgctactgccaccaaggatactacgatgactccatagcaggctctctccccaggttcagcgcacaacaaatcttactt
 cttaacaaagctggcgtatgtaggaaaaccaggtcccatgtatagaatgcagcttctgtcatgtatgcactgagctggccctggtgacc
 aacagtgccaccagcaactgggtgaatgtgataagcagcttaagaaaaatagaagaccttattcagtcacatagatgccacactgta
 caccgagagcgtatgacaccttctgcaaagtgcagctatgaaatgcttcttctggaactgcaagtaatttcattggaatctggcgtgct
 tccatacatgacaccgtgaaaaccttatttttgtaacaatcattgagctcaaatggaaacgtgacagaatccggttgaaggaatgta
 agagctggaagaaaaaatatcaaggaattctgcagagctttgttcacattgtgcaaatgtttattaatacctcagggggcgggtccgga
 ggcgggggaagtggcggaggaggaagcggcggaggaggaagcggaggaggatcactcaaatcactgccccccctatgagtggt
 gaacatgctgacatctgggtgaaatccttacccttattcaagagaacgatacatatgtaattccgggttaagaggaaagcaggcacatcat
 ctctcaccgaatgtgctgaataaggcgacaacgtgactcactggactacgccctccctcaaatgacttagagaccagcactcgtgcac
 caaaggccagcccccaagcaccgtcactactgcaggtgtaacccgcaaccagaatccctctcaccagcggaaaagagccagccg
 catcttctcctagttccaataatacagccgcgacaacagccgcaattgtccctggaagccagttgatgccatcaaagtcccccaagtacgggta
 cgaccgaaatctctcccacgaaagcagccacggaacaccaagccagactaccgcaagaactgggagctgaccgcttctgcatcacat
 cagccgccgggagtgatccacaggggactctgataccacagtagcaatcctcaacctccaccgtcctgctgtgtggccttagcgtgtgtc
 tctctcgtatgttacctcaaatccaggcagaccccccttctgtagtgcgaaatggaggcaatggaagcacttcccgtgacatggggca
 ctcttagcagagatgaggacctgaaaactgctcacaccacctc

P4-BB-mIL15/Ra-LSP

SEQ ID NO: 38 ДНК P4-BB-sushi15

ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCC
 ACAGCCAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACAT
 TGAGCTTGACTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGA

ACTGGATTCGGCAGTCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTCGGACCTACTATC
GGAGCAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAAT
CCTGACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGA
CACAGCTGTGTACTATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACG
TGTGGGGCCAGGGAACTACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGC
GGCGGTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAACCTGTGCTGACCCA
GAGCAGCTCTCTTAGTGCTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACTGCG
CTCCGGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGATC
CCCTCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGG
TGTGCCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTTCCT
GATCAGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATA
GCAGCGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCCGCTG
CACCTACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCC
AACCACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATA
CTCGCGGACTTGATTTTGCTTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCTTGCCGGAACCTG
TGGAGTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAA
AAAACCTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGA
AGAAGATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTG
CGAGTAAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTCAGAACCA
GCTCTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTAICTCGACAAGA
GAAGGGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGA
GGGGCTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTG
GCATGAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTT
GTCTACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCCTCCCCG
AGGGTCTGGCGCTACGAATTTCTCTCTCCTTAAACAGGCCGGAGACGTGGAAGAAA
ATCCCGGCCCGATGGCGCCCCGCAGGGCCCCGCGGGTGTGCAACATTGGGTCTGCCT
GCTCTCTTGCTGCTGTTGCTTCTCAGACCTCCCGCCACACGCGGAATTACGTGCCCTC
CCCCATGTCTGTGGAACATGCCGACATATGGGTCAAGTCTTACAGTCTTTACTCTA
GAGAACGGTATATCTGCAATAGCGGGTTCAAAGAAAAGCAGGGACTTCCAGCCTG
ACAGAGTGCGTACTGAATAAGGCCACTAACGTTGCTCACTGGACCACCCCATCATTG
AAGTGTATTCGATCAGGAGGCGGAAGCGGTGGTGGGGGCTCAGGGGGTGGCGGTAG
TGGAGGCGGGGGCAGCGGAGGGGGCTCTTTGCAAACTGGGTTAATGTTATTAGCG
ACCTTAAGAAAATCGAGGACCTGATACAGTCCATGCACATCGATGCGACCCTGTAC
ACTGAGAGCGATGTGCATCCCAGTTGCAAAGTGACTGCTATGAAATGCTTTCTGCTC
GAGTTGCAGGTGATCTCCCTGGAAAGCGGCGACGCCTCAATACACGACACGGTTCGA
AAATCTGATCATTCTCGCCAACAACCTCTCTCTCAAGTAACGGGAATGTGACAGAAAG
TGGATGCAAAGAATGCGAGGAACTTGAGGAGAAAAACATTAAAGAATTCCTCCAGT
CCTTCGTCCACATCGTGCAGATGTTTATCAATACTTCC

P4-BB-sIL15-LSP

SEQ ID NO: 39 ДНК P4-BB-mIL15/RaxCCL19

ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCCTCGTCGCAGCGGCCACTGGTGCCC
ATTCACAAGTCCAACCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACT
CTCAGCCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGG
AACTGGATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCTATTA
TAGGTCCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAA
CCCTGATACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCCGAAGA
TACTGCTGTGTATTACTGTGCCCCGGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGT
GTGGGGGCAGGGAACAACCGTTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCG
GTGGAAGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAA
TCTTCTCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGAT
CAGGCATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAGCCTGGATCA
CCGCCCCAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGG
CGTGCCGAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCT
CATCAGCGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTACTACTGCATGATTTGGCATA
GCAGTGCAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCCTCTCTCGCGCCGCCG
CTCCGACCACCACCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCCAACCATTGCCAGCC
AGCCTCTCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATA
CTCGGGGTCTCGATTTCCGCCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTT
GTGGCGTTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTCTACTGTAATAAGAGGGGGAGGA
AGAACTCCTGTATATTTTCAAACAACCCTTTATGCGCCCTGTCAAACCACCCAGG
AAGAAGATGGATGTAGTTGCAGATTCCCAGAAGAAGAGGAGGGGTGGGTGTGAACTT
AGGGTGAAGTTTAGTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAGAACCA
ACTCTACAATGAGCTGAATCTGGGGAGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAA
GACGCGGCCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGA
AGGATTGTACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCG
GCATGAAGGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCT
TTCAACCGCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACG
CGGAAGTGGAGCAACTAATTTTAGCCTTCTGAAACAAGCTGGCGATGTTGAGGAAA
ATCCTGGGCCGATGTACAGGATGCAGCTGCTTTCTTGCATTGCACTGAGTTTGGCAC
TCGTCACCAACTCTGCCACATCAAATTGGGTAAACGTTATCAGCGATCTGAAGAAAA
TCGAGGATTTGATCCAGAGTATGCATATTGACGCAACCTTGTATACAGAATCTGATG
TGCACCCAAGCTGTAAAGTCACAGCTATGAAATGCTTTTTTGCTGGAACTCCAAGTGA
TCTCCCTCGAATCCGGCGATGCATCCATCCACGATACTGTCGAAAACCTTATAATTT
TGGCCAATAACAGCCTCAGCAGCAATGGCAACGTGACAGAGTCTGGGTGTAAGGAG
TGTGAAGAACTGGAGGAGAAAAATATTAAGAATTCCTGCAGTCCTTTGTACACATT
GTGCAAATGTTCATTAACTTCAAGTGGCGGGCGGGAGCGGCGGGGGTGGTTCAGG
TGGTGGCGGCAGCGGTGGTGGGGGGTCTGGCGGGGGTAGTCTCAAATTACTTGTC
CTCCCCAATGAGCGTTGAACACGCCGACATTTGGGTCAAGTCTTATCACTGTACA
GCCGAGAAAGATATATCTGTAACCTCTGGATTTAAGCGCAAGGCCGGAACGTCTAGT
CTGACTGAGTGCGTGCTGAATAAGGCCACTAATGTTGCCCACTGGACTACCCCCAGC

CTGAAGTGTATTTCGCGATCCTGCCTTGGTGCACCAACGACCCGCGCCACCCAGCACA
 GTCACTACTGCCGGTGTGACTCCACAGCCCCGAGTCTTTGTCCCCGAGCGGAAAGGAG
 CCCGCCGCATCTTCACCTTCTTCAAATAACACGGCCGCCACAACCGCTGCAATCGTC
 CCAGGTAGTCAACTGATGCCCTCTAAAAGCCCCTCTACGGGGACAACCTGAGATAAG
 CAGCCACGAGTCTAGTCACGGCACACCAAGCCAGACTACCGCCAAAAACTGGGAGC
 TGACCGCCTCTGCCTCACACCAACCACCAGGCGTGTATCCCCAGGGGCACAGCGAC
 ACCACTGTGGCAATCAGCACCAGCACGGTACTGTTGTGCGGACTCTCTGCCGTCACT
 CTGCTGGCCTGCTACCTGAAATCCAGACAGACTCCCCCCTGGCCAGCGTGGAATG
 GAAGCTATGGAGGCTCTGCCCCTGACCTGGGGGACTAGCTCCAGAGATGAAGACTT
 GGAGAACTGCAGTCACCATCTCGGGTCCGGAGCCACGAATTTCTCTCTCCTCAAACA
 AGCTGGGGATGTTGAGGAGAACCCTGGGCCAATGGCCCTCTTGCTCGCACTGTCCCT
 CCTGGTCCTGTGGACATCACCCGCCCCACCCTGTCCGGCACGAATGACGCAGAAG
 ACTGCTGCCTGTCTGTCACGCAGAAACCCATCCCCGGCTATATAGTGCGGAACTTCC
 ATTACCTGCTGATCAAGGACGGATGTAGGGTGCCAGCCGTCGTCTTACCACCCTGC
 GAGGGCGCCAGCTGTGCGCTCCTCCTGACCAGCCCTGGGTGGAGCGGATCATTCAA
 CGCTTGCAGCGCACCTCAGCAAAAATGAAAAGAAGAAGTAGT

P4-BB-mIL15/Ra-LSP xCCL19

SEQ ID NO: 40 ДНК P4-BB-sushi15xCCL19

ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCTCGTCGCAGCGGCCACTGGTGCCC
 ATTCACAAGTCCAACCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACT
 CTCAGCCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGG
 AACTGGATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCCTATTA
 TAGGTCCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAA
 CCCTGATACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCCGAAGA
 TACTGCTGTGTATTACTGTGCCCGGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGT
 GTGGGGGCAGGGAACAACCGTTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCG
 GTGGAAGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAA
 TCTTCTTCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGAT
 CAGGCATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAGCCTGGATCA
 CCGCCCCAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGG
 CGTGCCGAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCT
 CATCAGCGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTACTACTGCATGATTTGGCATA
 GCAGTGCAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCCTCTCTCGCGCCGCCG
 CTCCGACCACCACCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCCAACCATTGCCAGCC
 AGCCTCTCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATA
 CTCGGGGTCTCGATTTTCGCCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTT
 GTGGCGTTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTTACTGTAATAAGAGGGGGAGGA
 AGAACTCCTGTATATTTCAAACAACCCTTTATGCGCCCTGTCAAACCACCCAGG
 AAGAAGATGGATGTAGTTGCAGATTCCAGAAGAAGAGGAGGGTGGGTGTGAACTT
 AGGGTGAAGTTTAGTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAGAACCA

ACTCTACAATGAGCTGAATCTGGGGAGGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAA
GACGCGGCCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCCACAGGA
AGGATTGTACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCG
GCATGAAGGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCT
TTCAACCGCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACG
CGGAAGTGGAGCAACTAATTTTAGCCTTCTGAAACAAGCTGGCGATGTTGAGGAAA
ATCCTGGGCCGATGGCACCTAGACGGGCACGCGGGTGTAGAACGCTGGGCCTCCCC
GCACTGTTGTTGCTCTTGCTTCTGAGACCTCCCGCTACAAGGGGGATAACTTGCCCT
CCACCTATGAGCGTCGAGCATGCTGACATTTGGGTGAAGTCCTATTCACTCTATTCC
CGGGAGCGGTACATCTGTA ACTCTGGATTCAAGAGGAAAGCCGGCACCCAGCAGTCT
GACCGAGTGCCTGCTGAATAAGGCCACCAATGTGGCCCACTGGACAACCCCTAGCC
TTAAATGTATACGGTCAGGGGGCGGATCTGGAGGCGGCGGCTCCGGTGGAGGCGGG
AGTGGGGGCGGGGGCTCTGGAGGTGGTAGCCTGCAGAATTGGGTAAACGTGATTAG
CGACCTCAAAAAAATCGAAGATCTTATCCAGAGCATGCATATAGACGCAACCCTGT
ACACAGAAAGCGATGTTACCCCGTCCTGCAAGGTAACGGCTATGAAGTGTTTTCTTT
TGGAGTTGCAAGTCATATCACTGGAAAGTGGGGATGCCTCAATTCACGATACCGTG
GAGAACCTCATCATCCTCGCAAATAACAGCCTGAGCTCCAATGGCAATGTACAGA
GTCAGGTTGCAAAGAGTGTGAAGAGCTGGAAGAGAAAAACATCAAAGAGTTCCTCC
AGTCATTTGTGCACATTGTCCAGATGTTCAATTAACACTAGTGGTAGTGGTGCCACAA
ATTTTAGTCTGTTGAAACAGGCCGGGGACGTCGAAGAAAACCCGGGGCCTATGGCC
CTCTTGCTCGCACTGTCCCTCCTGGTCCTGTGGACATCACCCGCCCCACCCTGTCCG
GCACGAATGACGCAGAAGACTGCTGCCTGTCTGTACGCAGAAACCCATCCCCGGC
TATATAGTGCGGA ACTTCCATTACCTGCTGATCAAGGACGGATGTAGGGTGCCAGCC
GTCGTCTTACCACCCTGCGAGGGCGCCAGCTGTGCGCTCCTCCTGACCAGCCCTGG
GTGGAGCGGATCATTCAACGCTTGCAGCGCACCTCAGCAAAAATGAAAAGAAGAAG
TAGT

SEQ ID NO: 50 /ДНК /

>Seq42A_из_37

atggactggacatggcggatactcttctctgctgctgcaaccggagcccacagccaggtgcagctccagcagctggggc
aggtttggtgactcctagtcagacattgagcttgacttgctatcagcggagactctgttcatctaattctgcaacttggaaactggattcggca
gtccccagccgggggctcgagtggttgggtcggacactatcggagcaaatggtacaatgactatgcagtgagcgtcaaatcaagaat
gagcatcaatcctgacacaagcaagaaccagtttagcctfcagcttaatagcgtgactccagaggacacagctgtgtactattgcgcgagag
gcatgatgacatactattacggaatggacgtgtggggccagggaactactgttacagtgtcaagcggaaatcctcggtagcggaggcggcg
gttccggcggaggggtagtgggtggcggggtagtcaacctgtgctgacctagcagctctcttagtctagcccaggtgcaagtgcaa
gtcttacctgtacactgcctccggtattaatgtgggcccttaccgaattactggtaccagcagaaaccaggtccccctcccagtatctgct
gaactataagtctgactcagacaaacagcagggtcgggtgtgcatccccgatttagtggctcaaaggatgctagtgcaaatgccggtgttc
tctgatcagcggactcagatcagaggacgaagcagactattactgtatgattggcatagcagcgtgctgtcttcggaggaggggactcag
ctcactgtcttgagtcgggccgtgcaactaccactaccctgccccctgacccccactcctcccccaactatcgcacccaaccactctct
ctcagacccgaagcctgtagaccgcagccggtggcgtgtgcatactcgcggactgattttgcttgatattatctgggcccccttg
ccggaactgtggagttctctgctgtctctcgaatcacctttattgtaacaaacgggggcgcaaaaaactctttacatttcaagcagccct

ttatcgggcccgctgcagaccacaggaagaagatggctgcagctgcaggtcccagaggaagaagagggcgctgcgagctgcgagt
 aaagttcagccggagcgcgatgcacctcataccagcagggctcagaaccagctctacaatgagctgaacctgggcagaagagaggaat
 atgatgtactcgacaagagaaggggacgcgatccagagatggggcgcaaacacggcggaaaaatccgcaggaggggctctataacg
 agctccagaaggacaagatggcagaagcctactcagaaattggcatgaaaggagagagaaggaggggaaagggccatgatggccttta
 ccaagggttgtctactgccaccaaggatactacgatgcaactccatgatgcaggctcttctccccga

SEQ ID NO: 51 /ДНК /

>Seq42B_из_38 (разница в 1 основание с 42^a)

ATGGACTGGACATGGCGGATACTCTTCCTCGTCGCTGCTGCAACCGGAGCCC
 ACAGCCAGGTGCAGCTCCAGCAGTCTGGGCCAGGTTTGGTGACTCCTAGTCAGACAT
 TGAGCTTGACTTGTGCTATCAGCGGAGACTCTGTTTCATCTAATTCTGCAACTTGGA
 ACTGGATTTCGGCAGTCCCCCAGCCGGGGGCTCGAGTGGTTGGGTTCGGACCTACTATC
 GGAGCAAATGGTACAATGACTATGCAGTGAGCGTCAAATCAAGAATGAGCATCAAT
 CCTGACACAAGCAAGAACCAGTTTAGCCTTCAGCTTAATAGCGTGACTCCAGAGGA
 CACAGCTGTGTAATAATTGCGCGAGAGGCATGATGACATACTATTACGGAATGGACG
 TGTGGGGCCAGGGAATACTGTTACAGTGTCAAGCGGAATCCTCGGTAGCGGAGGC
 GGCGGTTCCGGCGGAGGGGGTAGTGGTGGCGGGGGTAGTCAACCTGTGCTGACCCA
 GAGCAGCTCTTATAGTGTAGCCCAGGTGCAAGTGCAAGTCTTACCTGTACACTGCG
 CTCCGGTATTAATGTGGGCCCTTACCGAATTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGGATC
 CCCTCCCAGTATCTGCTGAACTATAAGTCTGACTCAGACAAACAGCAGGGCTCCGG
 TGTGCCATCCCGATTTAGTGGCTCAAAGGATGCTAGTGCAAATGCCGGTGTTCCTCT
 GATCAGCGGACTCAGATCAGAGGACGAAGCAGACTATTACTGTATGATTTGGCATA
 GCAGCGCTGCTGTCTTCGGAGGAGGGACTCAGCTCACTGTCTTGAGTCGGGCCGCTG
 CACCTACCACTACCCCTGCCCTCGACCCCTACTCCCGCCCCAACTATCGCATCCC
 AACCACTCTCTCTCAGACCCGAAGCCTGTAGACCCGCAGCCGGTGGCGCTGTGCATA
 CTCGCGGACTTGATTTTGCTTGTGATATTTATATCTGGGCCCCCTTGCCGGAACCTG
 TGGAGTTCTCCTGCTGTCTCTCGTAATCACCCTTTATTGTAACAAACGGGGGCGCAA
 AAAACTTCTTTACATTTTCAAGCAGCCCTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGA
 AGAAGATGGCTGCAGCTGCAGGTTCCCAGAGGAAGAAGAGGGCGGCTGCGAGCTG
 CGAGTAAAGTTCAGCCGGAGCGCCGATGCACCTGCATAACCAGCAGGGTCAGAACCA
 GCTCTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAATATGATGTAICTCGACAAGA
 GAAGGGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGCAAACCACGGCGGAAAAATCCGCAGGA
 GGGGCTCTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCAGAAGCCTACTCAGAAATTG
 GCATGAAAGGAGAGAGAAGGAGGGGAAAGGGCCATGATGGCCTTTACCAAGGGTT
 GTCTACTGCCACCAAGGATACGTACGATGCACTCCATATGCAGGCTCTTCCTCCCCG
 A

SEQ ID NO: 52 /ДНК /

>Seq42C_из_39 (идентичность Seq42A 1154/1523 (75,8%); равна
 последовательности ДНК из CAR Seq ID#40)

ATGGATTGGACCTGGCGAATACTCTTCCTCGTCGACGCGGCCACTGGTGCCC
 ATTCACAAGTCCAACCTGCAGCAGAGCGGACCTGGCCTGGTGACACCCAGTCAGACT

CTCAGCCTGACTTGTGCAATCAGCGGCGATAGTGTGTCTAGTAATTCTGCAACATGG
 AACTGGATCAGACAATCACCAAGTCGGGGACTGGAGTGGCTCGGTAGAACCTATTA
 TAGGTCCAAATGGTATAACGATTATGCAGTGTCCGTGAAGTCCCGAATGTCTATCAA
 CCCTGATACTAGTAAGAATCAATTCAGTCTGCAGCTTAACAGCGTAACCCCCGAAGA
 TACTGCTGTGTATTACTGTGCCCGGGGTATGATGACTTACTACTACGGAATGGATGT
 GTGGGGGCAGGGAACAACCGTTACTGTTTCATCCGGCATTCTCGGGAGCGGAGGCG
 GTGGAAGCGGTGGGGGAGGGTCCGGGGGAGGAGGATCTCAGCCTGTTCTTACTCAA
 TCTTCTCCCTCTCCGCCTCACCCGGGGCCTCCGCCTCACTGACCTGCACTCTGCGAT
 CAGGCATCAACGTTGGGCCTTATAGAATCTACTGGTACCAGCAAAGCCTGGATCA
 CCGCCCCAGTACCTGCTGAACTATAAATCAGACTCAGACAAGCAGCAGGGCTCCGG
 CGTGCCGAGTCGATTTAGCGGGAGCAAGGACGCGTCTGCTAATGCCGGCGTGCTTCT
 CATCAGCGGGCTCCGCAGTGAGGATGAGGCAGATTACTACTGCATGATTTGGCATA
 GCAGTGCAGCCGTATTTGGCGGAGGAACACAGCTGACTGTCCTCTCTCGCGCCGCCG
 CTCCGACCACCACCCTGCACCACGCCACCTACTCCTGCGCCAACCATTGCCAGCC
 AGCCTCTCTCTCTCCGACCCGAGGCCTGTAGACCTGCCGCTGGCGGTGCAGTTCATA
 CTCGGGGTCTCGATTTCCGCTGCGACATCTACATCTGGGCACCACTGGCTGGCACTT
 GTGGCGTTTTGCTCCTGTCCCTGGTGATCACTCTCTACTGTAATAAGAGGGGGAGGA
 AGAAACTCCTGTATATTTCAAACAACCCTTTATGCGCCCTGTCAAACCACCCAGG
 AAGAAGATGGATGTAGTTGCAGATTCCCAGAAGAAGAGGAGGGGTGGGTGTGAACTT
 AGGGTGAAGTTTAGTCGCAGTGCCGACGCTCCCGCTTACCAACAGGGTCAGAACCA
 ACTCTACAATGAGCTGAATCTGGGGAGGCGCGAAGAATACGACGTTCTGGATAAAA
 GACGCGGCCGCGACCCCGAGATGGGCGGGAAACCGCGGAGAAAGAACCACAGGA
 AGGATTGTACAATGAGCTCCAGAAAGATAAGATGGCAGAAGCCTACTCCGAGATCG
 GCATGAAGGGGGAGCGAAGGCGCGGGAAAGGACACGATGGGCTGTACCAGGGTCT
 TTCAACCGCGACAAAGGACACCTATGATGCTCTCCATATGCAGGCCCTCCCGCCACG
 C

SEQ ID NO: 44/AA/Vg9-P2A-Vd2 TCR

MVSLHASTLAVL GALCVYGAGHLEQPQISSTKTL SKTARLECVVSGITISATSV
 YWYRERPGEV IQFLVSI SYDGTVRKESGIPSGKFEVD RIPETSTSTLTIHNVEKQDIATYY
 CALWEAQQELGKKIKVFGPGTKLIITDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLE
 KFFPDVIKIHWEKKSN TILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTVPEKSLDKEHRCIVRHEN
 NKNGV DQEII FPIKTDVITMDPKDNCSKDAND TLLLQLTNTSAYMYLLLLLKS VVYF
 AIITCCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMERISSLIHLSLFWAGVM
 SAIELVPEHQTVPV SIGVPATLRCSMKGEAIGNYYINWYRKTQGN TMTFIYREKDIYGP
 FKDNFQGDIDI AKNLAVLKILAPSERDEGSYYCACDTLGMGGEYTDKLI FKGKTRVTV
 PRSQPHTKPSV FVMKNGTNVACL VKEFY PKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSGKYNAVK
 LGKYEDSNSVTCSV QHDNKTVHSTDFEVKTDSTDHV KPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVH
 TEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL

SEQ ID NO: 53 AA SSVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP

(ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-mIL15/Ra (включая

линкер 2баа)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTT
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRSGGATNFSLLKQA
 GDVEENPGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVN
 VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEN
 LIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSSGGGSGGGGSGG
 GGGGGSGGGSLQITCPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECV
 LNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRPAAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSS
 NNTAATTAIVPGSQLMPSKSPSTGTTEISSHESHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGV
 YPQGHSDTTVAISTSTVLLCGLSAVSLACYLKSRQTPPLASVEMEAMEALPVTWGTSS
 RDEDLENC SHHL

SEQ ID NO: 54 AA SSVHsp-P4-BB-sIL15-LSP

(ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид -IL15)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTT
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRSGGATNFSLLKQA
 GDVEENPGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVN
 VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEN
 LIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

SEQ ID NO: 55 AA SSVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19

(ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-
 endospCCL19)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYIYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTT

APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQA
 GDVEENPGPMRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVN
 VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEN
 LIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATNFSLLKQ
 AGDVEENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLSGTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRNFHYLL
 IKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS

SEQ ID NO: 56 AA SSVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19

(ssVHsp-P4-CD8h/TM-BB-CD3z-P2A-IL15LSP-IL15пропептид-IL15-P2A-
 endospCCL19)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWyNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTTTP
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPA
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA
 EAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQA
 GDVEENPGPMRISKPHLRISISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVN
 VISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVEN
 LIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATNFSLLKQ
 AGDVEENPGPMALLLALSLLVLWTSPAPTLSGTNDAEDCCLSVTQKPIPGYIVRNFHYLL
 IKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS

SEQ ID NO: 57 AA SSVHsp-P4-CD28-sushi15 -CCL19

(ssVH-P4-CD28hinge-TM-CD28cyto-CD3z-P2A-IL15Rasp-IL15Ra(sushi)-20аалинкер-
 IL15-P2A-endospCCL19)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSATW
 NWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWyNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTA
 VYYCARGMMTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVTQSSS
 LSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPSRFS
 GSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAIEVMYPPP
 YLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYLLVTVAFIIFWVRS
 KRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM
 KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
 MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICN
 SGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRSGGSGGGGSGGGGSGGGGSLQNWV

NVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVISLES GDASIHDTVE
 NLILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSGSGATNFSLLK
 QAGDVEENPGPMALLLALLSLLVLWTSPAPTLSGTND AEDCCLSVTQKPIPGYIVRNFHY
 LLIKDGCRVPAVVFTTLRGRQLCAPPDQPWVERIIQRLQRTSAKMKRRSS

SEQ ID NO: 58 ДHK ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP

atggactggacatggcggatact cttcctcgtcgtcgtcgaaccggagccca
 cagccaggtgcagctccagcagctctgggcc aggtttggtgactcctagtcagacattgag cttgacttgtctatcagcggagactctgt
 ttcataaattctgcaacttgaactggat tcggcagtcccccagccgggggctcagtg gttgggtcggacctactatcggagcaaatg
 gtacaatgactatgcagtgagcgtcaaatc aagaatgagcatcaatcctgacacaagcaa gaaccagtttagccttcagcttaatagcgt
 gactccagaggacacagctgtgtactattg cgcgagaggcatgatgacatactattacgg aatggacgtgtggggccagggaactactgt
 tacagtgtcaagcggaaatcctcggtagcgg aggcggcgggtccggcggagggggtagtgg
 tggcgggggtagtcaacctgtgctgacca gagcagctctcttagtctagcccaggtgc aagtgcaagtcttacctgtacactgcgctc
 cggtaftaatgtgggcccttaccgaattta ctggtaccagcagaaccaggtccctcc ccagtatctgctgaactataagtctgactc
 agacaaacagcaggggctccgggtgtccatc ccgatttagtgctcaaggatgctagtgc aaatgccgggtgttctcctgatcagcggact
 cagatcagaggacgaagcagactattactg tatgatttggcatagcagcgtcgtctt cggaggagggactcagctcactgtcttgag
 tcgggccgtgcacctaccactaccctgc cctcagccccctactcccgccccactat cgcatacccaaccactctctcagaccga
 agcctgtagaccgcagccgggtggcgtgt gcatactcgggacttgatttctgtga tatttatactggcccccttggcgaac
 ttgtggagtctcctgctgtctcgtaat caccctttattgtaacaaacgggggcgcaa aaaactctttacatttcaagcagccctt
 tatgcggcccgtgcagaccacacaggaaga agatggctgcagctgcaggttcccagagga
 agaagagggcggctgcgagctgcgagtaaa gttcagccggagcggcagatgcacctgcata
 ccagcaggtcagaaccagctctacaatga gctgaacctgggcagaagagaggaatga
 tgtactgacaagagaaggggacgcgatcc agagatgggcccgaaccacggcggaaaaa
 tccgcaggaggggctctataacgagctcca gaaggacaagatggcagaagcctactcaga
 aattggcatgaaaggagagagaaggagggg aaaggccatgatggcctttaccaagggtt
 gtctactgccaccaaggatacgtacgatgc actccatagcaggtcttctcctcccaggg ctcaggagccaccaactctcctgctgaa
 gcaggccggcagctggaggagaaccagg tcctatgagaatctcaaaacccatcttag aagcatctctatacagtgftatctgtct
 cttgctgaactcccactttttgacagaagc tgggatacatgtctttatcctgggatgttt ttccgcccggctccctaaaaccgaggccaa
 ctgggtaaacgtaatctcagaccttaaaaa gattgaggacctgattcagtaatgcatat cgatgcaactttgtacacggagagcgtgt
 tcaccaagtgtaaagtaccgcgatgaa atgtttctcctgaattgcaggtgatct cctcagtcaggcagcgtctatccacga
 tactgtggaaaaccttatcattttggcgaa caatagcctctcatctaatggtaacgtgac cgagtccggctgcaaggaatgtgaggaact
 ggaggagaaaaatcaaggaattcctgca gtcattgtacacatcgtgcaaatgtttat caacactctcaggaggcgggtcaggagg
 gggaggctcaggcggcggaggtagtggagg
 aggaggaagtggaggcggcagctcagat cacctgtccaccaccaatgagtgtgaaca
 cgcggacatttgggtcaagtcatactct ttactccagagagcgatacatatgcaacag tggtttcaagcggaaagcgggtactcttc
 actfaccgagtgctgctcaataaagcaac caacgtcgcgcactggacaacacctagcct gaaatgcataagagatcctgccctgttca
 ccagcggccagcggccaccgtccacagtgc aacagctgggtgtgacccccagccggagag
 ccttagccctagcggcaaaagagccggccgc aagctaccaagctcaataaacagccgc
 gacaactgctgctatcgtgcccggttcaca attgatccgagcaaatcaccagaccgg aactaccgaaatctcaagtcataaagtag
 tcacggtaactcctagccagacgacggcaaa gaattgggagctgactgcctctcgcagcca
 ccagccggcgggtgttaccctcaggggca ttcagatactactgtggctatctctacttc caccgtcctctgtgcgcttctgtctgt

gtctcttctgcttctattttaaagtag acagacaccacccttgcagtgtcgagat ggaagcgatggaggcattgcctgtgacctg
gggaaccagtagtagggacgaggacctgga aaattgtagtcaccacctgtga

SEQ ID NO: 59 ДНК ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP

atggactggacatggcgg atactcttctctgctgctgcaaccgga gcccacagccaggtgcagctccagcagctct
gggccaggttgggtgactcctagtcagaca ttgagcttgacttgtctatcagcggagac tctgtttcatctaattctgcaacttggaa
tggattcggcagctccccagccgggggctc gagtggttgggtcggacctactatcggagc
aaatggfacaatgactatgcagtgagcgtc aaatcaagaatgagcatcaatctgacaca agcaagaaccagtttagcctcagctta
agcgtgactccagaggacacagctgtgtac tattgcgcgagaggcatgatgacatactat
tacggaatggacgtgtggggccagggaact actgttacagtgtcaagcggaaatctcgg
agcggagggcggcgggtccggcggaggggggt agtgggtggcggggtagtcaacctgtgctg
accagagcagctctcttagtctagccca ggtgcaagtgcagtcttacctgtactc gctccgggtattaatgtggggccctfacega
atftactggtagcagcagaaccaggctcc cctccccagtatctgctgaactataagtct gactcagacaaacagcagggtccgggtg
ccatcccatttagtggctcaaaggatgct agtcaaatccgggtgttctctgacagc ggactcagatcagaggacgaagcagactat
tactgtatgatttggcatagcagcgtgct gtcttcggaggagggactcagctcactgtc ttgagtcgggcccgtgcacctaccactacc
cctgccctcgacccctactcccgccca actatcgateccaaccactctctctcaga cccgaagcctgtagaccgcagccgggtggc
gctgtgcatactcgggacttgatttctc tctgatatttatactgggcccccttggc ggaactgtggagtctctctgctgtctctc
gtaatcacccttattgtaacaaacggggg cgcaaaaaacttctttacatttcaagcag cctttatgcccggcctgcagaccacacag
gaagaagatggctgcagctgcaggttccca gaggaagaagagggcggctgcgagctgcga
gtaaaagttcagccggagcggcatgcacct gcataccagcagggtcagaaccagctctac
aatgagctgaacctgggcagaagagaggaa tatgatgtactcagacaagagaaggggacgc
gatccagagatggcggcgaaccagcggcgg aaaaatccgcaggaggggctctataacgag
ctccagaaggacaagatggcagaagcctac tcagaaattggcatgaaaggagagagaagg
aggggaaaggccatgatggcctttacca gggftgtctactgccaccaaggatactgac gatgcactccatagcaggctctctctccc
cgaggttcagcgcacaacaaattttcactt cttaaacaagctggcgatgtcgaggaaaac ccaggtcccatgcccgtctctaaacccac
ttcgggagcatttctaccagtgtatctt tgcctctgcttaactcccactttctcaca gaagcagggatacacgtgttctctgggc
tgttttctgcccgtctccccaaaacagaa gccaaactgggtgaatgtgatcagtgatctt aagaaaatagaagacctatccagctaatg
cacatcgatccacctgtactgagagc gacgtgcaccttctgcaaggtgacagct atgaagtcttctgcttgagctccaggtc
atatcccttgagtctggagatgcaagtac cacgatacgggtgaaaacctattatactg gccaaataattcttcttccaatggcaat
gttaccgaatcagggtgtaaagagtgcgaa gagctggaggagaaaaatcaaaagattt ttgcagtcatttgtcacatcgtccagatg
tttattaatacaagttga

SEQ ID NO: 60 ДНК ssVHsp-P4-BB-mIL15/Ra-LSP-CCL19

atggattggacctggcgaatact ctctctctgctgcagcggccactggtgcca ttcacaagtccaactgcagcagagcggacc
tggcctggtgacaccagtcagactctcag cctgacttgtgcaatcagcggcgatagtg gtctagtaattctgcaacatggaactggat
cagacaatcaccaagtcggggactggagtg gctcggtagaacctattataggtccaaatg gtataacgattatgcagtgctccgtgaagtc
ccgaatgtctatcaacctgatactagtaa gaatcaattcagctgcagcttaacagcgt aacccccgaagatactgctgtgtattactg
tgccccgggtatgatgacttactactacgg aatggatgtgtgggggcagggaacaaccgt tactgtttcatccggcattctcgggagcgg
aggcgggtggaagcgggtgggggaggggtccgg gggaggaggatctcagcctgttctactca
atcttctctctctccgctcaccgggggc ctccgctcactgacctgcactctgcgac aggcataacgttggccttatagaatcta
ctggtaccagcaaaagcctggatcaccgcc ccagctactgctgaactataatcagactc
agacaagcagcagggtccggcgtgccgag tcgatttagcgggagcaaggacgcgtctgc

taatgccggcgtgcttctcatcagcgggct cgcagtgaggatgaggcagattactg catgatttggcatagcagtgacgccgtatt
 tggcggaggaacacagctgactgtcctctc tcgcgccgccgtccgaccaccacctgc
 accacgccacctactcctgcgccaacct tgcagccagcctctctctccgaccga ggctgtagacctgccgtggcgggtgagt
 tcatactcggggtctcgatttcgctgcga catctacatctggcaccactggctggcac ttgtggcgttttgcctctgcctggat
 cactctctactgtaataagagggggaggaa gaaactctgtatatttcaacaacctt tatgcacctgtccaaaccaccaggaaga
 agatggatgtagttgcagattcccagaaga agaggagggtgggtgtgaacttaggggtgaa gtttagtcgagtgccgacgctcccgtta
 ccaacagggtcagaaccaactctacaatga gctgaatctggggaggcgcgaagaatacga
 cgttctggataaaagacgcggccgcgacc cgagatgggcgggaaaccgcgagaaagaa
 cccacaggaaggattgtacaatgagctcca gaaagataagatggcagaagcctactccga
 gatcggcatgaagggggagcgaaggcggg gaaaggacacgatgggtgtaccagggtct
 ttcaaccgcgacaaaggacacctatgatgc tctccatatgcaggccctcccgccacgagg aagtggagcaactaattttagccttctgaa
 acaagctggcgtggtgaggaaaatcctgg gccgatgcgattagcaagccacatctgag gagtatcagcatccagtgtacctttgct
 gctgtcaactctcatttctgacagaagc tggcatccacgttctcctgggtgctt cagcgcggcttggcgaagaccgaagccaa
 ctgggtgaatgtgatctccgacctcaagaa gatcaggacctgatccagagtatcatat tgatgctacactttacaccgagtcgatgt
 tcacctagtgttaaggtgactgccatgaa atgtttctgctggagcttcagtaataag cttgagctcggggatgcaagcattcatga
 cacggtfgagaatctcatcctctggcaaa taattcactgtcttcaaatggtaacgttac agagagcggctgaaggagtgcgaagagct
 tgaagagaaaaacatcaaggaattctcca gagttctgtcacatctgcaaatgttcat caacacgagctctggaggcggatcaggagg
 cggaggatcaggggggggagggtcaggcgg agggggatctggtggaggcagccttcaaat
 cacatgcccgccacctatgtccgttgagca cgccgacatatgggtgaagtcattact gtatagtcgggagaggtacatttgaatc
 aggttcaagcgaagctgggacatcaag cctgacagaatgcgtaacttaacaaggccac aaatgtcggccattggaccactccgagct
 gaagtgtatacagatcccgcactggtgca ccagcgacctgtccccctagtacagtaac
 aaccgcggcggttacgccccagcctgaatc cctgagccccatctggcaaggagcctgcagc
 tagctctccgagcagcaataactgcagc gaccactgcagccatcgtccccggtccca gctcatgcctagtaaaagtccgtctacagg
 aacgaccgaaatctccagccagagtctag tcacgggaccccgagtcagaccactgccc
 gaactgggagcttacggccagtgcctcca tcaacccccggcgtctaccgcaaggcca
 tagcgacaccacagtcgccattagcacatc tactgtcctctgtgcccgtctccgctgt gtccctctggcctgttatctcaagagcag
 acagaccccccaatggcaagcgttgagat ggaggcaatggaggctctgcccgttactgt
 ggggacttctcacgcgacgaggatctgga gaactgtcccaccacctgggaagtgtgc
 caaaaattcagcctgtcaagcaggccgg ggatgtgaagagaaccaggccgatggc cctctgtcgcactgtccctctgtctct
 gtggacatcacccgccccaccctgtccgg cacgaatgacgcagaagactgtgcctgtc
 tgtcacgcagaaaccatccccggctatat agtcggaaactccattacctgtgatcaa ggacggatgtaggggtccagccgtcgtctt
 caccacctgcgagggcggcagctgtgcgc tcctctgaccagccctgggtggagcggat
 cattcaacgcttgacgcacctcagcaaa aatgaaaagaagaagtattga

SEQ ID NO: 61 ДHK ssVHsp-P4-BB-sIL15-LSP-CCL19

atggattggacctggcgaatact ctctctctcgcagcggccactggtgcca tcacaagtccaactgcagcagagcggacc
 tggcctggtgacaccagtcagactctcag cctgactgtgcaatcagcggcgtatgtgt gtctagtaattctgcaaatggaactggat
 cagacaatcaccaagtcggggactggagtg gctcggtagaacctattataggtccaaatg gtataacgattatgagtgctccgtaagtc
 ccgaatgtctatcaacctgatactagtaa gaatcaattcagctcgcagcttaacagcgt aacccccgaagatactgctgtgtattactg
 tccccgggtatgatgacttactactacgg aatggatgtgtgggggcagggaacaacctt tactgtttcatccggcattctcgggagcgg
 aggcggtggaagcgggtgggggagggtccgg gggaggaggatctcagcctgttctactca

atcttcttccctctccgctcaccggggc ctccgctcactgacctgactctcgatc aggcataacggtggcctfatagaatcta
 ctggtaccagcaaaagcctggatcaccgcc ccagfacctgctgaactataatcagactc
 agacaagcagcagggctccggcgtgccgag tcgatttagcgggagcaaggacgcgtctgc
 taatgccggcgtgcttctcatcagcgggct ccgcagtgaggatgaggcagattactactg catgatttggcatagcagtgccagccgtatt
 tggcggaggaacacagctgactgtcctctc tcgcgcccgctccgaccaccacctgc
 accacgcccactactcctgcgccaacct tgccagccagcctctctctccgaccga ggctgtagacctgccgctggcgggtgcagt
 tcatactcggggtctcgatttcgctgcga catctacatctggcaccactggctggcac ttgtggcgtttgctcctgtccctggat
 cactctctactgtaataagagggggaggaa gaaactcctgtatatttcaacaacctt tatgcgacctgtccaaaccaccaggaaga
 agatggatgtagttgcagattcccagaaga agaggaggggtgggtgtaacttaggggtgaa gtttagtcgagtgccgacgctcccgtta
 ccaacagggctcagaaccaactctacaatga gctgaatctggggagggcgaagaatacga
 cgttctggataaaaagacgcggccgcgacc cgagatgggcgggaaaccgcgagaaagaa
 cccacaggaaggattgtacaatgagctcca gaaagataagatggcagaagcctactccga
 gatcggcatgaagggggagcgaaggcgcgg gaaaggacacgatgggctgtaccagggctc
 ttcaaccgacaaaaggacacctatgatgc tctccatagcaggccctcccgccacgcgg aagtggagcaactaatttagccttctgaa
 acaagctggcgtggtgaggaaaatcctgg gccgatgcgatctccaagccccatctgag gagcatcagatccagtgctacctgtct
 gctgctcaacagccacttctgacggaagc aggcattcatgtctttatcctgggatgctt ttctgccggcctgccaagacagaagcaaa
 ctgggttaacgttatcagtgatctgaaaa aatcgaggacctgatccagtcctatcatat tgacgctacgctgtatacagagtcggacgt
 ccaccatcatgcaaggtgaccgctatgaa gtgttctctgctggaactgcaggttatcag cttgaaagtggcgacgcttccattcaga
 tacggtggagaactgataatccttgcgaa taatagtctgagcagcaacggcaacgttac tgaagcgggtgcaagaatgtgaagagct
 cgaagagaaaaacatcaagaattttgca gtcttctgcatattgttcagatgtttat taacaccagtggatcaggagcaactaact
 ctctctttaaagcaagctggcgtatgata ggaaaacctgggcctatggccctctgct cgcactgtccctcctggtcctgtggacac
 accgccccaccctgtccggcacgaatga cgcagaagactgctgctgtctgtcacgca
 gaaaccatccccgctatfatagtcggaa ctccattacctgctgatcaaggacggatg tagggtgccagccgtcgtcttaccacct
 gcgagggcgcagctgtgcgctcctctga ccagccctgggtggagcggatcattcaacg
 cttgcagcgcacctcagcaaaaatgaaaag aagaagtgttga

SEQ ID NO: 63 /AA/CD8TM домен

IYIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYC

SEQ ID NO: 64/AA/CD8 шарнир

PTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD

SEQ ID NO: 65/ AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-TM-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYSKQWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTYYYGMDVWVGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIYIYQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYICMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSPTTTPAPRPP
 TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYC
 NKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG
 QNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE
 IGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO: 66 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-TM-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSTTTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK
 RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN
 QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
 MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 67 /AA/ ssVHsp P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSPTTTTPAPRPP
 TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 68 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSTTTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCN
 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
 NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 69 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAAPTTPA
 PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT
 LYCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY
 QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 70 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAATTPAP
 RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITL
 YCNKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ
 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 71 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAAPTTPA
 PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVIT
 LYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ
 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 72 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAATTPA
 PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVIT
 LYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ
 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 73 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
 WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
 TAVYYCARGMMTTYYYGMDVWGQGTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSGPVLVLTQ
 SSSLSASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
 RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAAPTTP
 APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVI
 TLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY
 QGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
 AYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 74 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWyNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
TAVYYCARGMMTYYYGMDVWVGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLQ
SSSLASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSRAAATTPA
PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT
LYCNKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY
QQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE
AYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

SEQ ID NO: 75 /AA/ ssVHsp-P4-CD8шарнир-ТМ-41BB-CD3z

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQQSGPGLVTPSQTLSTCAISGDSVSSNSAT
WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWyNDYAVSVKSRMSINPDTSKNQFSLQLNSVTPED
TAVYYCARGMMTYYYGMDVWVGQTTVTVSSGILGSGGGGSGGGGSGGGGSQPVLQ
SSSLASPGASASLTCTLRSGINVGPIRYWYQQKPGSPPQYLLNYKSDSDKQQGSGVPS
RFSGSKDASANAGVLLISGLRSEDEADYYCMIWHSSAAVFGGGTQLTVLSAAATTPA
RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL
YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ
GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY
SEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, содержащая первый полинуклеотид, кодирующий химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, специфически распознающее мезотелин человека, и внутриклеточную область 4-1BB, и второй полинуклеотид, кодирующий интерлейкин 15 (IL-15).

2. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1, отличающаяся тем, что CAR дополнительно содержит шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8 и внутриклеточную область CD3 ζ .

3. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 1 или п. 2, причем выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, кодирующий CAR, и второй полинуклеотид, кодирующий IL-15.

4. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-3, дополнительно содержащая третий полинуклеотид, кодирующий CCL19.

5. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-4, отличающаяся тем, что IL-15 представляет собой IL-15 человека.

6. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-5, отличающаяся тем, что CCL19 представляет собой CCL19 человека.

7. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-6, отличающаяся тем, что антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит три определяющие комплементарность области (CDR), содержащие SEQ ID NO: 16-18, и при этом VL содержит три CDR, содержащие SEQ ID NO: 19-21.

8. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-7, отличающаяся тем, что VH содержит SEQ ID NO: 22, и VL содержит SEQ ID NO: 23.

9. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-8, отличающаяся тем, что антитело содержит формат одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv).

10. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-9, отличающаяся тем, что антитело содержит SEQ ID NO: 1.

11. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по пп. 1-10, отличающаяся тем, что внутриклеточная область 4-1BB содержит SEQ ID NO: 24.

12. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 2, отличающаяся тем, что внутриклеточная область CD3 ζ содержит SEQ ID NO: 25.

13. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по пп. 2 или п. 12, отличающаяся тем, что внутриклеточная область 4-1BB расположена выше внутриклеточной области CD3 ζ в выделенной молекуле нуклеиновой кислоты.

14. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 2, отличающаяся тем, что шарнирная область CD8 содержит SEQ ID NO: 26.

15. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 2, отличающаяся тем, что трансмембранная область CD8 содержит SEQ ID NO: 27.

16. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по пп. 2 или п. 14, отличающаяся тем, что CAR дополнительно содержит пептидный линкер длиной от 3 до 10 аминокислотных остатков, связывающий антитело и шарнирную область CD8.

17. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 16, отличающаяся тем, что пептидный линкер содержит SEQ ID NO: 4.

18. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-17, отличающаяся тем, что CAR дополнительно содержит сигнальный пептид.

19. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 18, отличающаяся тем, что сигнальный пептид расположен выше антитела, которое специфически распознает мезотелин человека в выделенной молекуле нуклеиновой кислоты.

20. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по пп. 18 или п. 19, отличающаяся тем, что сигнальный пептид содержит SEQ ID NO: 2.

21. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-20, отличающаяся тем, что каждый второй полинуклеотид, кодирующий IL-15, и необязательно третий полинуклеотид, кодирующий CCL19, независимо транскрибируются под промотором, содержащим полинуклеотид, кодирующий саморасщепляющийся пептид 2A (пептид 2A).

22. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 21, отличающаяся тем, что пептид 2A содержит SEQ ID NO: 5.

23. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-22, отличающаяся тем, что IL-15 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 8-11.

24. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-22, отличающаяся тем, что IL-15 содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 28 или 29.

25. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-24, отличающаяся тем, что CCL19 содержит SEQ ID NO: 13.

26. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-25, отличающаяся тем, что первый полинуклеотид, кодирующий CAR, и второй полинуклеотид, кодирующий IL-15, расположены в молекуле нуклеиновой кислоты от 5'-конца к 3'-концу в качестве первого полинуклеотида, кодирующего CAR, и второго полинуклеотида, кодирующего IL-15.

27. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-25, отличающаяся тем, что первый полинуклеотид, кодирующий CAR, второй полинуклеотид, кодирующий IL-15, и третий полинуклеотид, кодирующий CCL19, расположены в молекуле нуклеиновой кислоты от 5'-конца к 3'-концу в качестве первого полинуклеотида, кодирующего CAR, и второго полинуклеотида, кодирующего IL-15, и третьего полинуклеотида, кодирующего CCL19.

28. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-27, причем выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID

NO: 14 или 31.

29. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-27, причем выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, 35, 36 или 15.

30. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-27, причем выделенная молекула нуклеиновой кислоты содержит SEQ ID NO: 37, 38, 39 или 40.

31. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30.

32. Вектор по п. 31, причем вектор представляет собой вирусный вектор, необязательно вектор экспрессии.

33. Вектор по п. 32, причем вирусный вектор выбран из ретровирусного вектора, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора и вектора аденоассоциированного вируса (AAV).

34. Вектор по п. 31 или п. 32, причем вирусный вектор представляет собой вектор pSFG, вектор pMSGV или вектор pMSCV.

35. Вектор по п. 31, причем вектор представляет собой плазмиду.

36. Иммунная клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30 или вектор по любому из пп. 31-35.

37. Иммунная клетка по п. 36, причем иммунная клетка дополнительно содержит полинуклеотид, кодирующий гамма-TCR (γ TCR), и полинуклеотид, кодирующий дельта-TCR (δ TCR).

38. Иммунная клетка по п. 36, отличающаяся тем, что γ TCR представляет собой V гамма 9 TCR ($V\gamma 9$ TCR), и δ TCR представляет собой V дельта 2 TCR ($V\delta 2$ TCR).

39. Иммунная клетка, экспрессирующая:

а) химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антитело, которое специфически распознает мезотелин человека, и внутриклеточную область 4-1BB; и

б) IL-15; и

с) необязательно CCL19.

40. Иммунная клетка по п. 39, отличающаяся тем, что CAR дополнительно содержит шарнирную область CD8, трансмембранную область CD8 и внутриклеточную область CD3 ζ .

41. Иммунная клетка по любому из пп. 36-40, причем иммунная клетка представляет собой Т-клетку, естественную клетку-киллер (NK), В-клетку, антигенпрезентирующую клетку или гранулоцит, необязательно Т-клетку или NK-клетку.

42. Иммунная клетка по любому из пп. 36-41, причем иммунная клетка получена из индуцированной плюрипотентной стволовой клетки (iPSC).

43. Иммунная клетка по любому из пп. 36-42, причем иммунная клетка не экспрессирует альфа-TCR (α TCR) и/или бета-TCR (β TCR), необязательно $\alpha\beta$ TCR.

44. Иммунная клетка по любому из пп. 36-43, причем иммунная клетка экспрессирует $\gamma\delta$ TCR.

45. Иммунная клетка по п. 44, отличающаяся тем, что $\gamma\delta$ TCR содержит $V\gamma 9$ TCR и

V82TCR.

46. Фармацевтическая композиция, содержащая иммунную клетку по любому из пп. 35-44 и фармацевтически приемлемую добавку.

47. Способ лечения рака, экспрессирующего мезотелин, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, иммунной клетки по любому из пп. 35-44 или фармацевтической композиции по п. 46.

48. Способ по п. 47, отличающийся тем, что рак, экспрессирующее мезотелин, представляет собой солидную опухоль, необязательно выбранную из мезотелиомы, колоректального рака, рака поджелудочной железы, рака тимуса, рака желчных протоков, рака легких, рака кожи, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака влагалища, рака шеи, рака матки, рака печени, рака почки, рака селезенки, рака трахеи, рака бронхов, рака желудка, рака пищевода, рака желчного пузыря, рака яичек, рака яичников и рака костей.

49. Способ по п. 47, отличающийся тем, что рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой рак кроветворной системы.

50. Способ по п. 47, отличающийся тем, что рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой саркому, необязательно выбранную из хондросаркомы, саркомы Юинга, злокачественной гемангиоэндотелиомы, злокачественной шванномы, остеосаркомы и саркомы мягких тканей.

51. Способ по любому из пп. 47-50, отличающийся тем, что рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой метастатический рак.

52. Способ по любому из пп. 47-50, отличающийся тем, что рак, экспрессирующий мезотелин, представляет собой рецидивирующий рак или рефрактерный рак.

53. Способ по любому из пп. 47-52, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение субъекту дополнительного терапевтического агента или проведение лечения по дополнительной терапевтической схеме.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что дополнительный терапевтический агент включает химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент, таргетную терапию, лучевую терапию или их комбинацию.

55. Способ по п. 53, отличающийся тем, что дополнительная схема лечения включает терапию первой линии.

56. Способ по п. 53, отличающийся тем, что дополнительная схема лечения включает хирургическое вмешательство.

57. Способ по любому из пп. 53-56, отличающийся тем, что иммунную клетку по любому из пп. 36-44 или фармацевтическую композицию по п. 45 и дополнительный терапевтический агент вводят одновременно.

58. Способ по любому из пп. 52-55, отличающийся тем, что иммунную клетку по любому из пп. 36-44 или фармацевтическую композицию по п. 45 и дополнительный терапевтический агент вводят последовательно.

59. Способ по п. 57, отличающийся тем, что иммунную клетку по любому из пп.

36-44 или фармацевтическую композицию по п. 5 вводят субъекту перед введением дополнительного терапевтического агента.

60. Способ по п. 57, отличающийся тем, что иммунную клетку по любому из пп. 35-43 или фармацевтическую композицию по п. 45 вводят субъекту после введения дополнительного терапевтического агента.

61. Способ по любому из пп. 46-59, отличающийся тем, что субъектом является человек.

62. Способ снижения пролиферации опухолевых клеток, включающий приведение опухолевой клетки в контакт с иммунной клеткой по любому из пп. 36-45, тем самым уменьшая пролиферацию опухолевых клеток.

63. Способ по п. 62, отличающийся тем, что способ представляет собой способ *in vitro*.

64. Способ по п. 62, отличающийся тем, что способ представляет собой способ *in vivo*.

65. Способ получения иммунных клеток, экспрессирующих молекулы клеточной поверхности, которые специфически распознают мезотелин человека, IL-15, и, необязательно, SCL19, включающий:

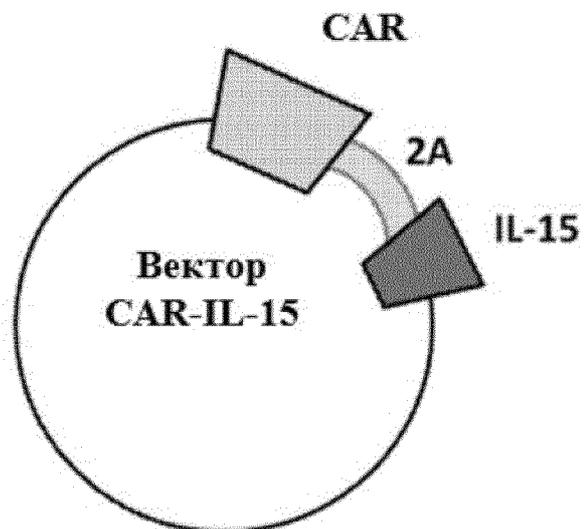
введение молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30 или вектора по любому из пп. 31-35 в иммунную клетку для индуцирования экспрессии молекул клеточной поверхности, которые специфически распознают мезотелин человека, IL-15 и, необязательно, SCL19 с помощью иммунной клетки.

66. Способ по п. 65, отличающийся тем, что иммунная клетка представляет собой Т-клетку, естественную клетку-киллер (NK), В-клетку, антигенпрезентирующую клетку или гранулоцит, необязательно Т-клетку или NK-клетку.

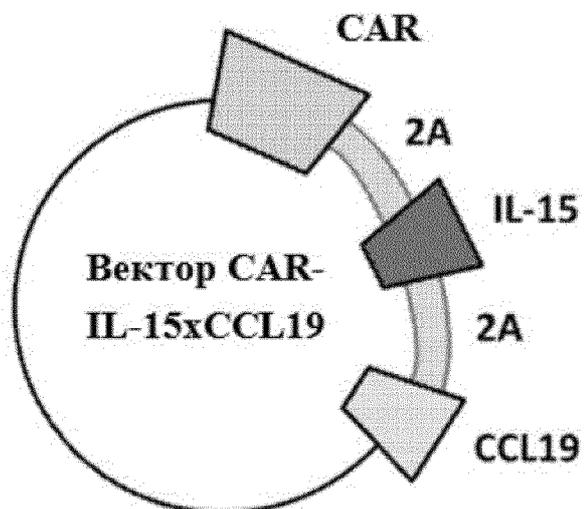
67. Набор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30; вектор по любому из пп. 31-35, иммунную клетку по любому из пп. 36-45 или фармацевтическую композицию по п. 46, и инструкцию по применению.

По доверенности

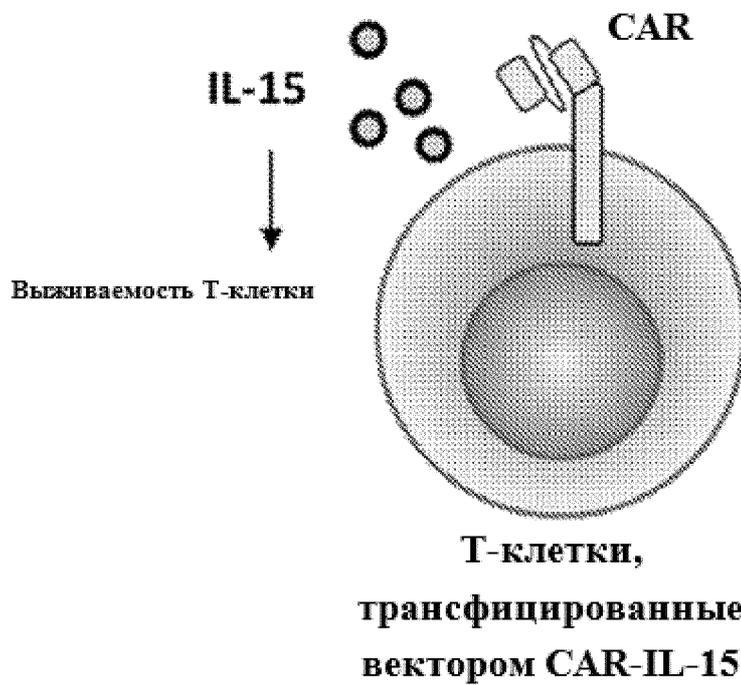
ФИГ. 1А



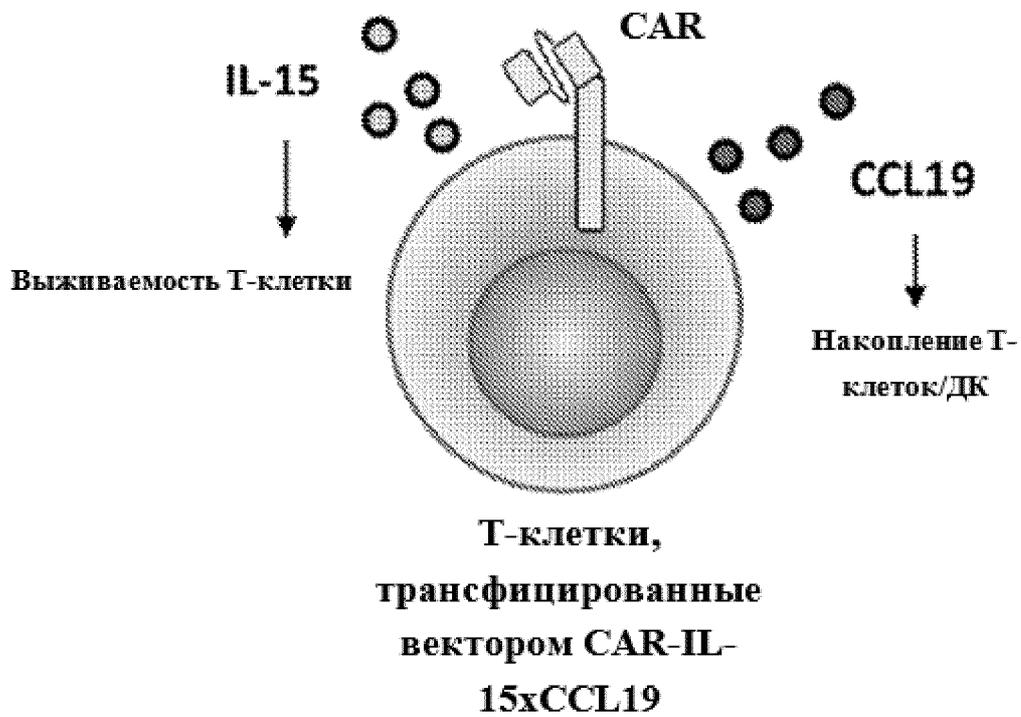
ФИГ. 1В



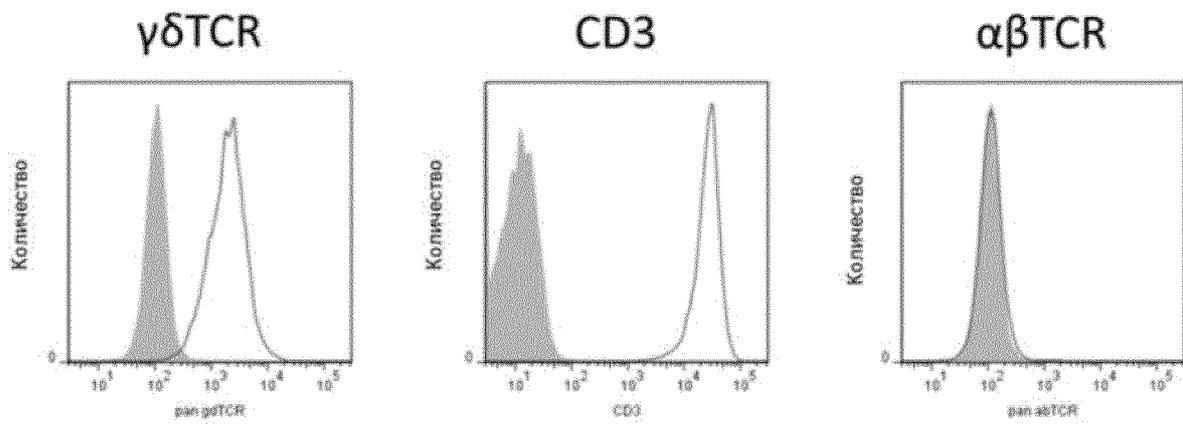
ФИГ. 1С



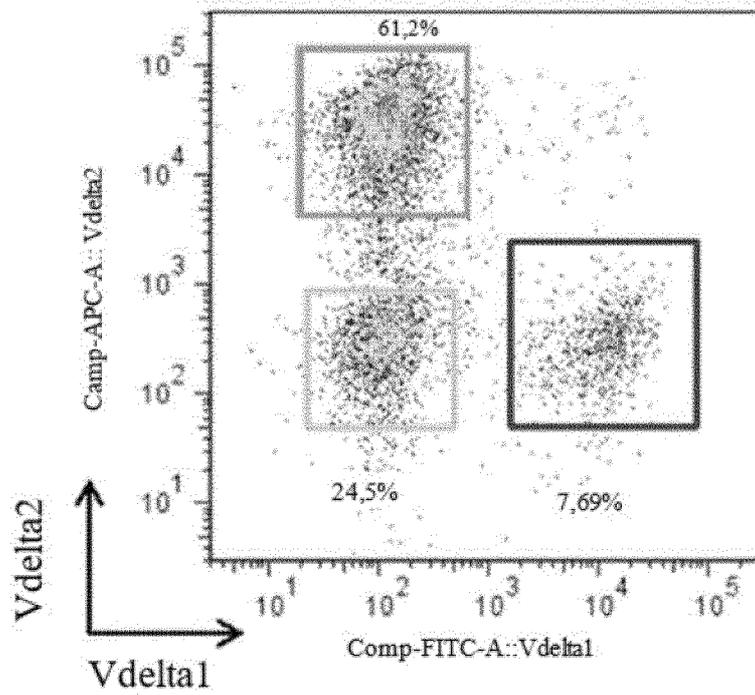
ФИГ. 1D



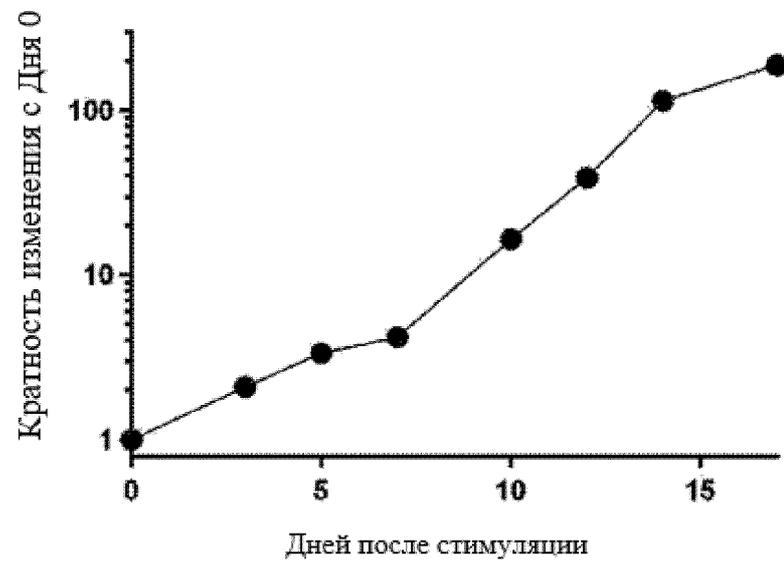
ФИГ. 2



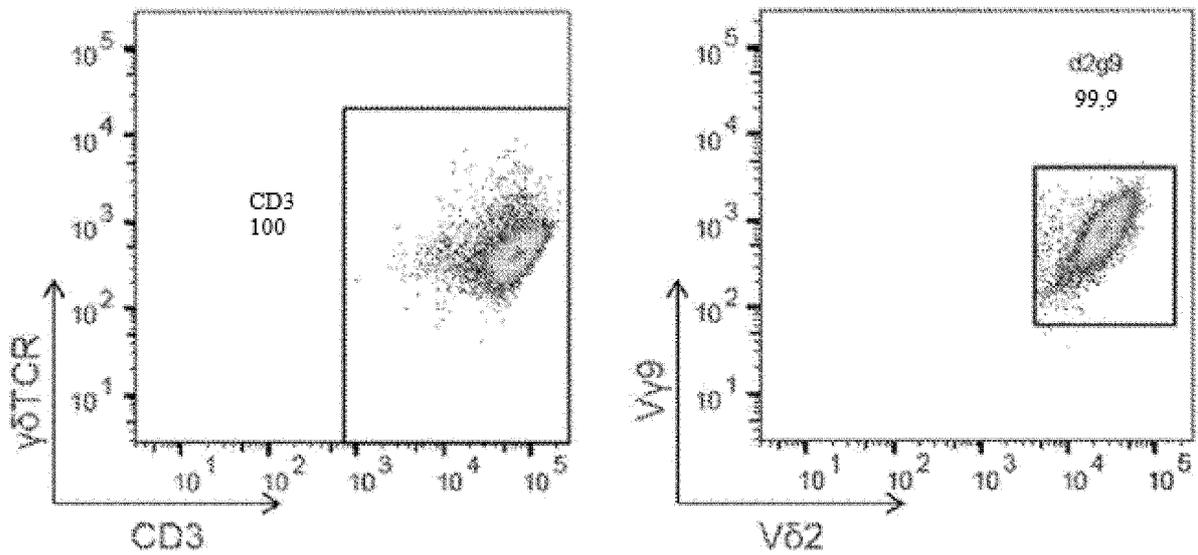
ФИГ. 3



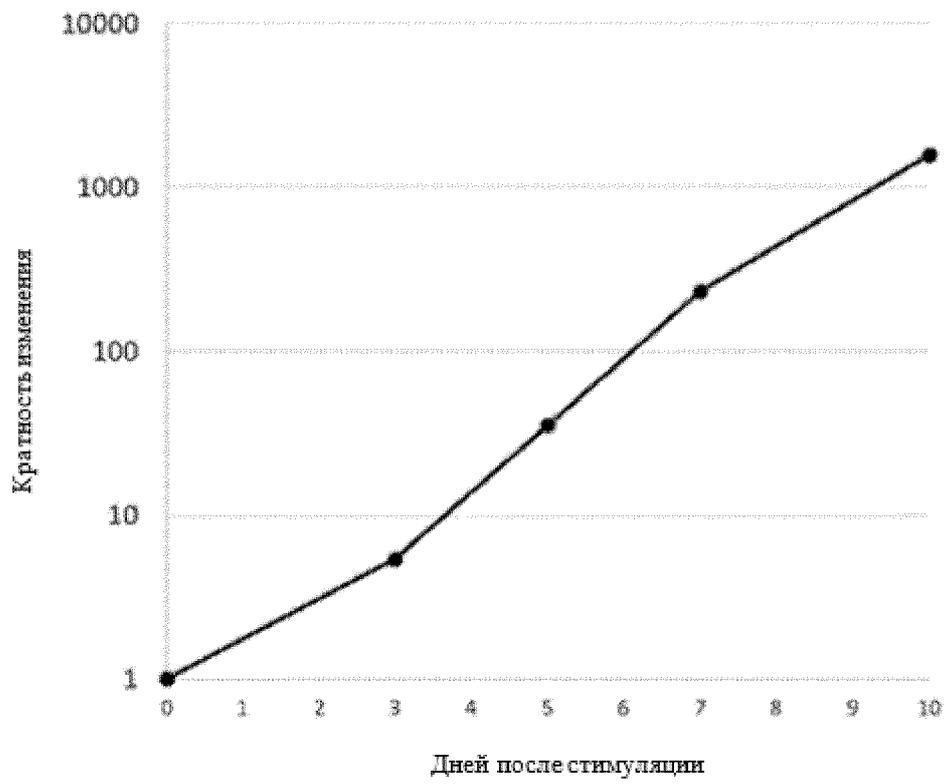
ФИГ. 4



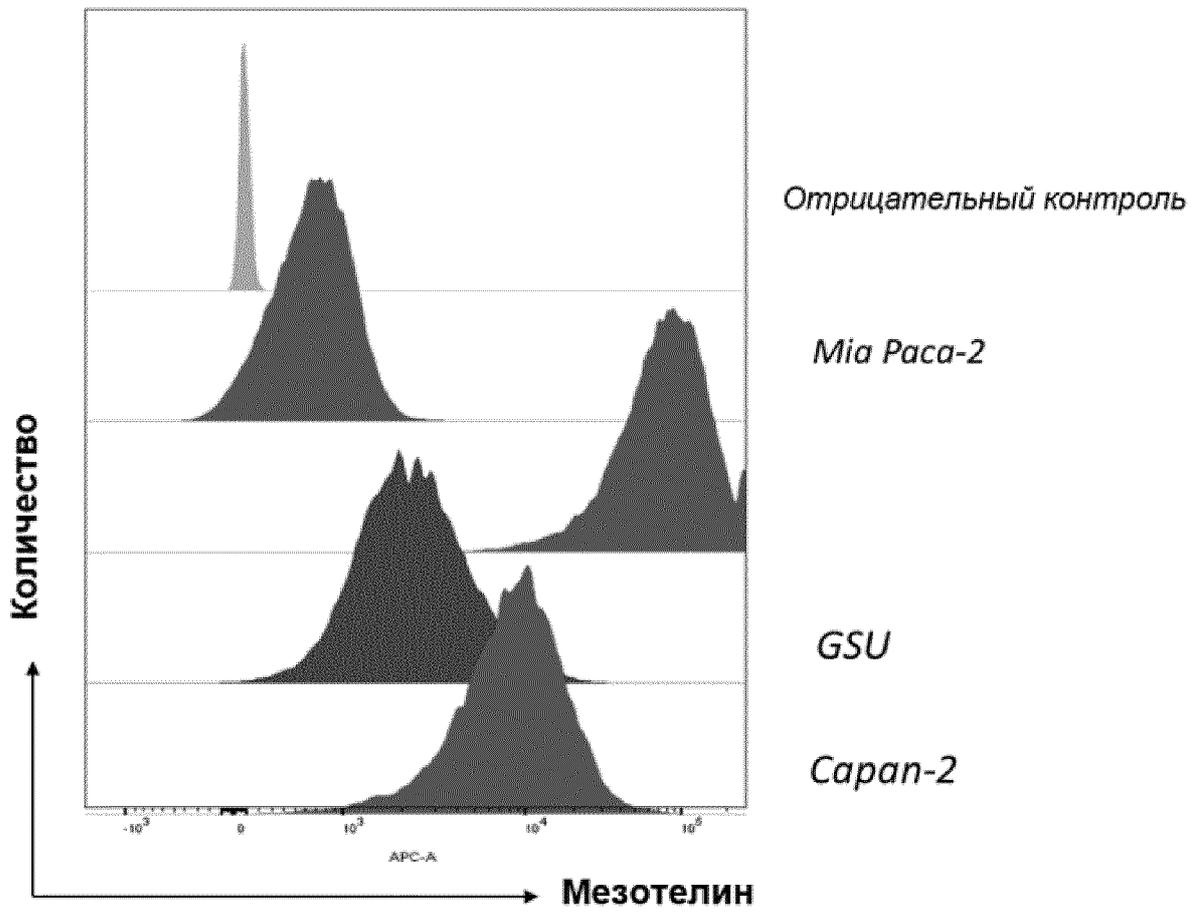
ФИГ. 5



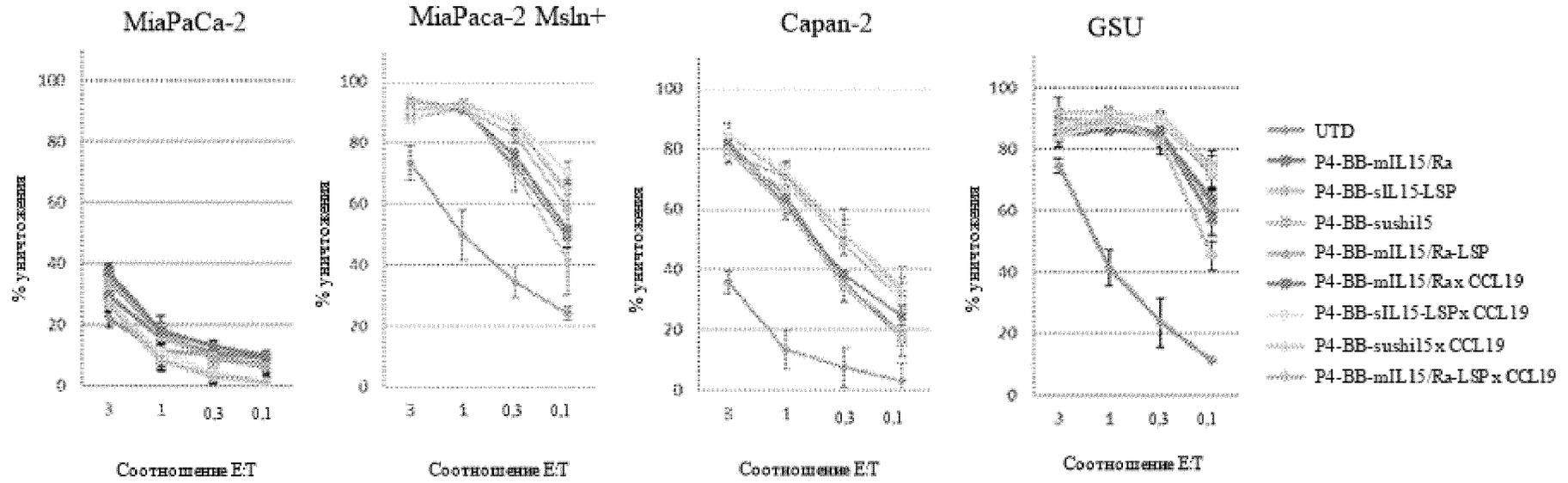
ФИГ. 6



ФИГ. 7А

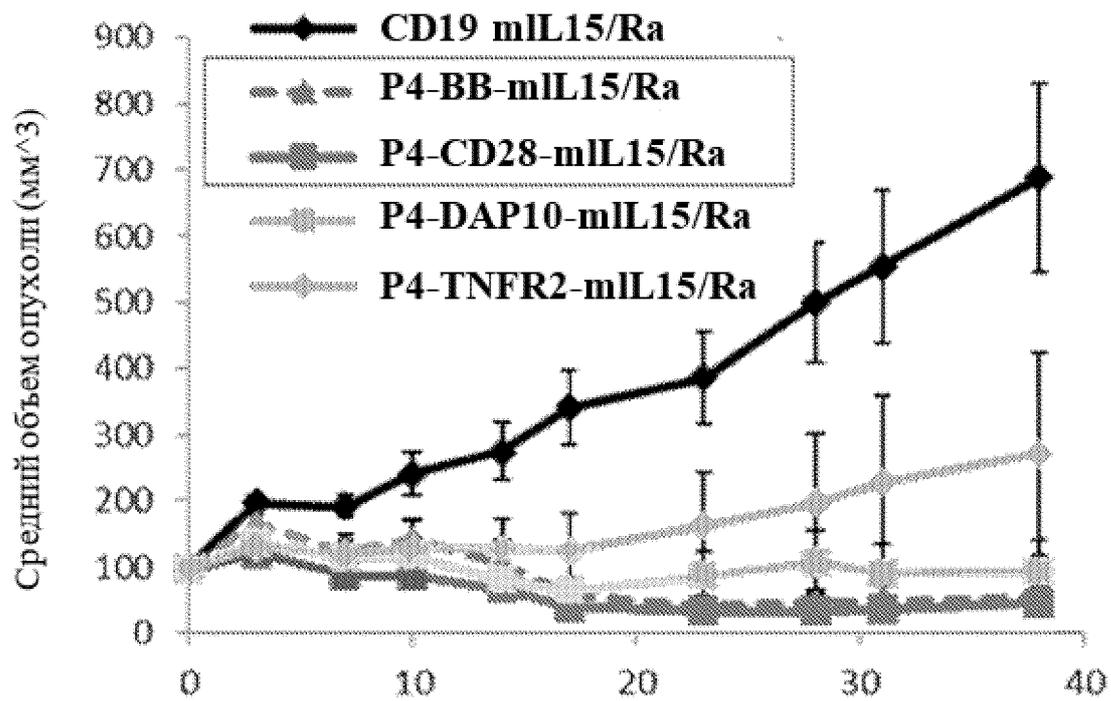


ФИГ. 7В



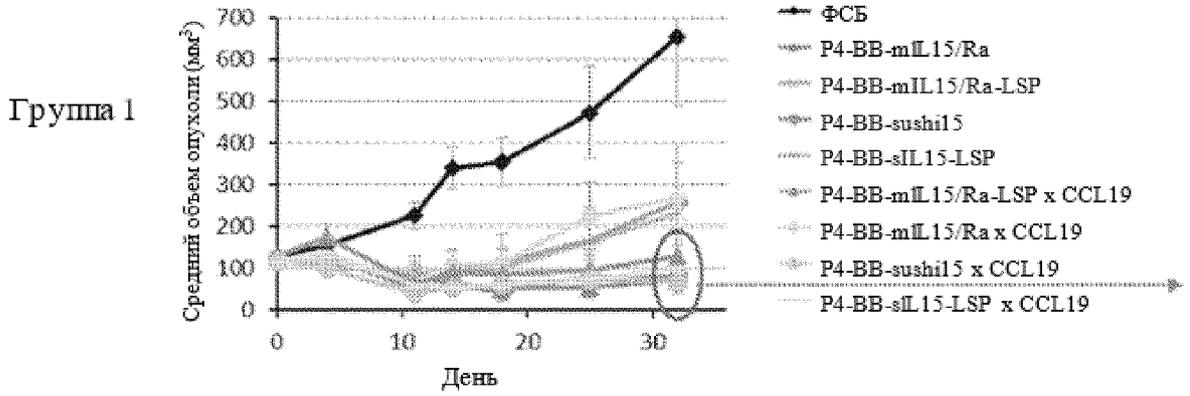
ФИГ. 8

*n/k модель ксенотрансплантата Саран-2
1M свежий Meso iCAR-T внутриопухолево*



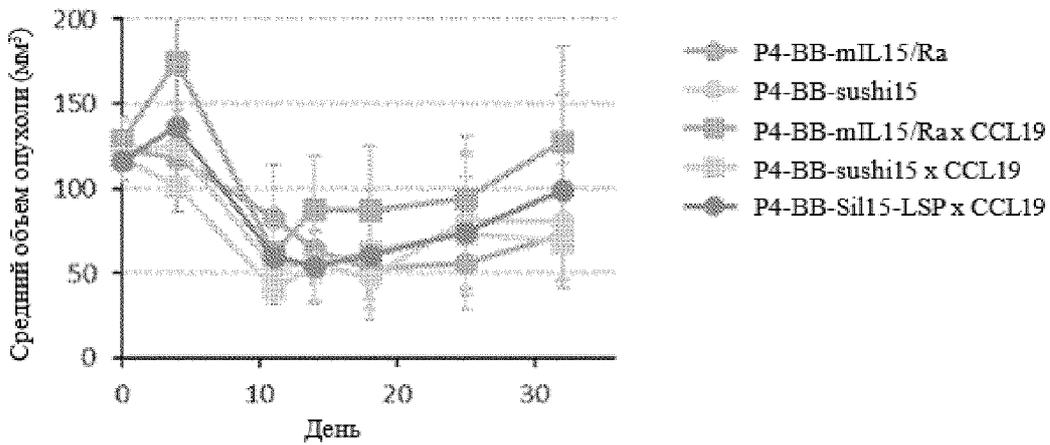
Сарап-2 п/к

5MiCAR-T внутритропухолево (все конструкции)



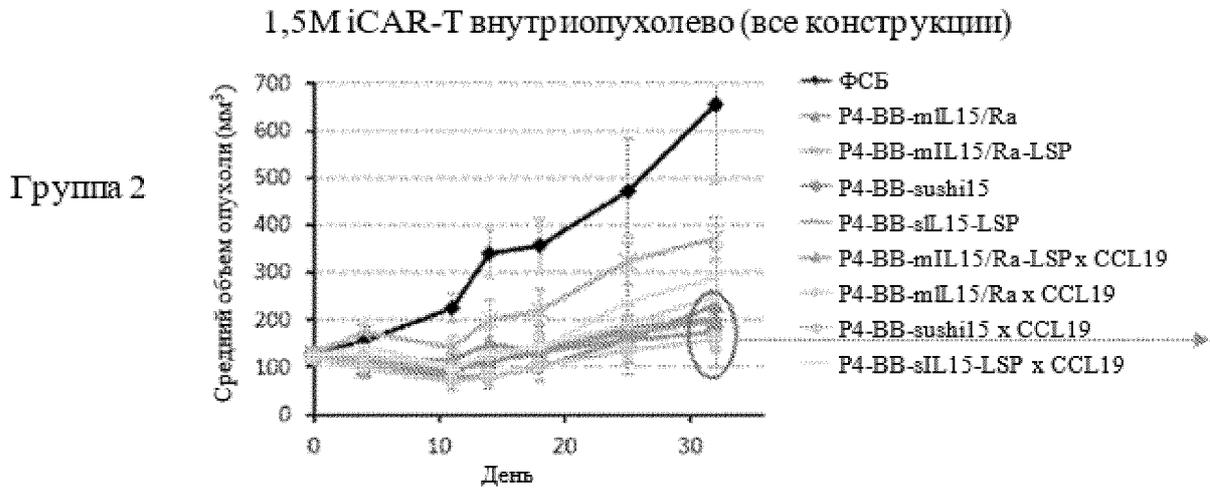
ФИГ. 9В

5MiCAR-T внутритропухолево (5 лучших конструкций)

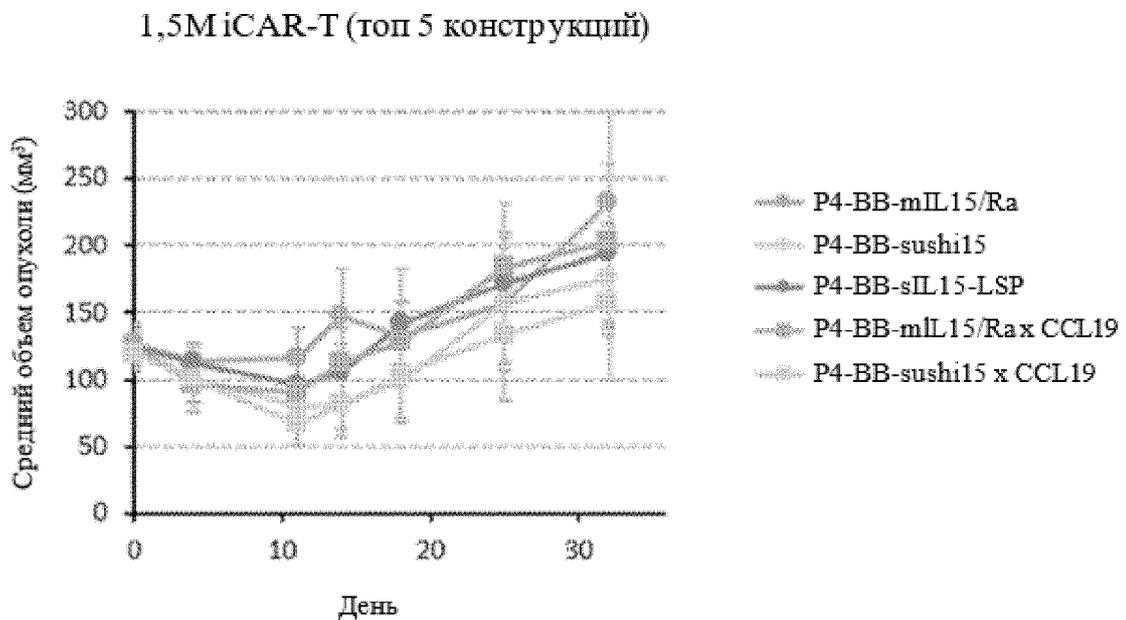


10/14

ФИГ. 9С

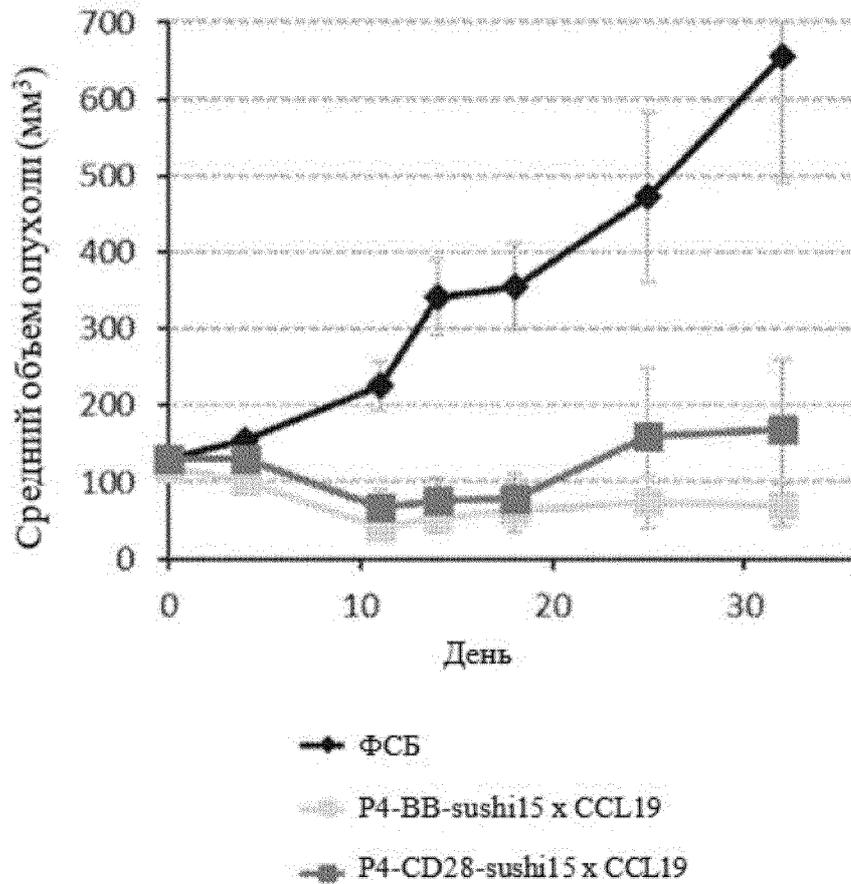


ФИГ. 9D



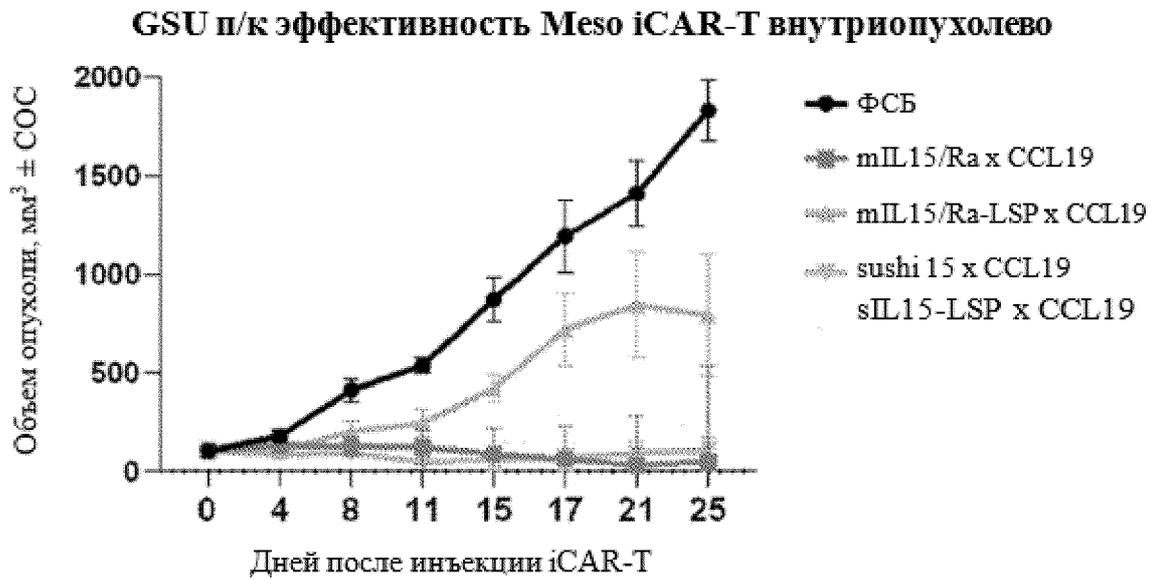
ФИГ. 9Е

Сарап-2 п/к
5М замороженный Meso iCAR-T(KI)
внутриопухолево

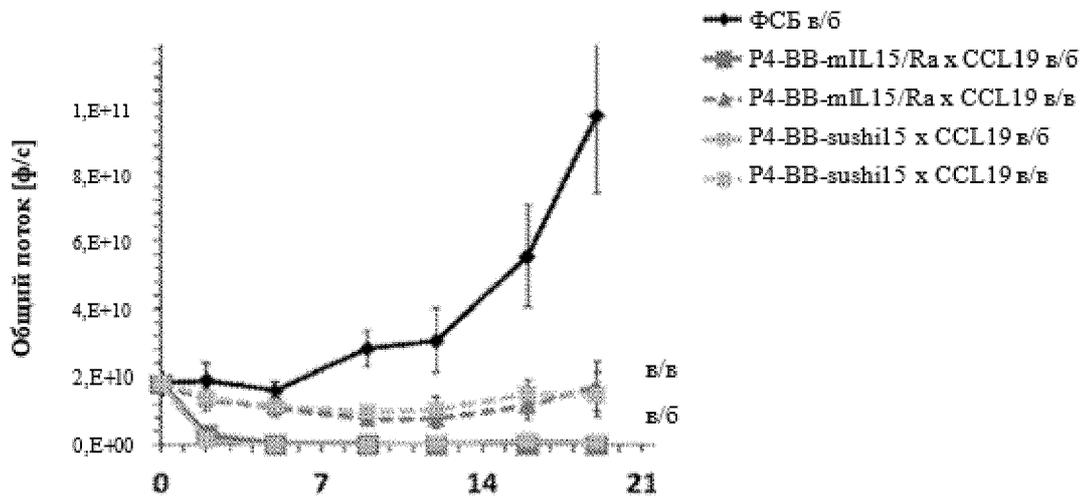


12/14

ФИГ. 10

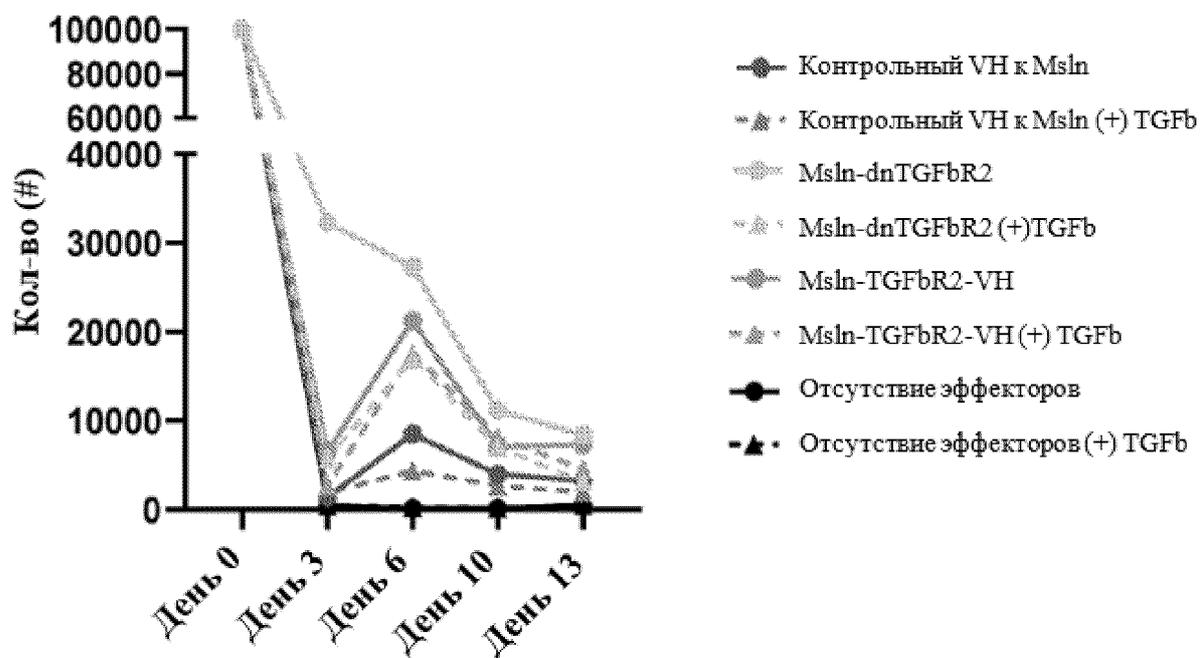


ФИГ. 11



ФИГ. 12А

Количество клеток
MSLN iCART +/- 10 нг/мл TGFb



ФИГ. 12В

% ЦИТОТОКСИЧНОСТИ
MSLN iCART +/- 10 нг/мл TGFb

